

UNIVERSITÉ DE SHERBROOKE
Faculté de Génie
Département de génie civil et génie du bâtiment

LES CONTAMINANTS ORGANIQUES À L'ÉTAT
DE TRACE DANS LES BIOSOLIDES
MUNICIPAUX : DE LA DÉTECTION À
L'ÉLIMINATION

Thèse présentée au Département de génie civil et génie du bâtiment

Par
Sabrina SAIBI

Sherbrooke (Québec), Canada

02 mars 2020

MEMBRES DU JURY

Professeur Hubert Cabana
Directeur de recherche
Département de génie civil et génie du bâtiment

Professeur Jean-Philippe Bellenger
Évaluateur interne
Département de chimie

Docteur Lounès Haroune
Évaluateur interne
Institut de pharmacologie de Sherbrooke

Professeure Satinder Kaur Brar
Évaluateur externe
INRS

Professeure Debra Hausladen
Rapporteur
Département de génie civil et génie du bâtiment

RÉSUMÉ

Les contaminants organiques ainsi que la gestion des déchets générés sont des enjeux majeurs pour la sphère scientifique, politique et sociétale. Ces contaminants sont généralement retrouvés dans toutes les strates environnementales (ex. les eaux usées, les biosolides municipaux) et en faibles quantités.

Malgré le nombre élevé et grandissant des recherches entreprises sur les contaminants organiques à l'état de trace, leurs comportements et leur devenir dans des matrices complexes type biosolides municipaux restent toujours à investiguer. Dans ce contexte, il devient important d'avoir une stratégie spécifique permettant la gestion et l'élimination des contaminants présents dans les biosolides municipaux.

Pour répondre à cette problématique, les objectifs de cette recherche incluent le développement et la validation d'une méthode analytique par chromatographie liquide, couplé à un détecteur de masse en tandem. Ce développement permet la détection et la quantification multirésidus applicable à l'analyse des contaminants émergents dans les biosolides municipaux, mais également dans plusieurs matrices complexes environnementales. Ces méthodes ont permis l'établissement de rapports de caractérisations de deux stations d'épuration du Québec pour une meilleure vision de la charge et de la nature des contaminants d'intérêts.

Le manque d'efficacité observée des procédés conventionnels des stations d'épuration, implique la mise en place d'une stratégie alternative d'élimination des contaminants ciblés notamment dans les biosolides municipaux. La voie fongique est un procédé prometteur et cette approche biotechnologique nous a permis de supporter l'efficacité des souches fongique à réduire la charge en contaminants, mais également à réduire le volume des biosolides générés et cela de manière concomitante.

Cette thèse contribue à l'amélioration des connaissances concernant les contaminants organiques dans l'environnement. Elle démontre l'intérêt de mettre continuellement en place des outils aussi bien analytique que biotechnologique permettant l'étude de leurs présences et leurs comportements dans les stations d'épuration et l'environnement.

Mots clés : contaminants organiques, biosolides municipaux, chromatographies, spectrométrie de masse en tandem, réduction du volume, biodégradation.

DÉDICACES

À mes traceurs de lumières ma très chère maman et mon très cher papa, qui par leur amour, et leur dévouement ont toujours su être à mes côtés, pour me soutenir et m'encourager tout le long de mes études, je leur rends hommage pour ce sillon qu'ils nous ont tracé, que nous poursuivrons et à jamais inachevé.

À mon adorable grande sœur Lynda, à mes grands frères Ziriad, Tarik et mes petits neveux qui malgré la distance ont toujours su être présents pour me redonner le sourire dans les moments difficiles.

À ma majestueuse grand-mère Yema.

À mes amis de cœur : Sihem, Aida et Amina pour leurs soutiens quotidiens, pour leurs sincères amitiés et pour cette famille de cœur que nous formons.

À Lounès Haroune pour tout ce qu'il m'a apporté, pour tout le temps qu'il a consacré à ma formation, pour toutes ses heures de dur labeur à enrichir mon savoir, mes connaissances, pour toute sa générosité et son amour abyssal de la science.

À la mémoire de celui qui restera très cher et demeura à jamais dans mon cœur : mon tonton bien adoré Hachemi Saibi

« Sabrina Saibi »

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à présenter mes sincères remerciements à Monsieur le Professeur Hubert Cabana, qui m'a accueilli dans son laboratoire, qui m'a suivi tout au long de ce travail, qui m'a encouragé, guidé et beaucoup aidé de ses précieux conseils à concrétiser cette thèse. Qu'il trouve ici l'expression de toute ma reconnaissance et ma profonde gratitude.

Je remercie Monsieur le professeur Jean-Philippe Bellenger, pour son aimable et bienveillante disponibilité qu'il a toujours témoignée à mon égard, pour son aide, ses précieux conseils. Je lui exprime toute ma reconnaissance pour la démarche scientifique qu'il m'a prodiguée à la réalisation de cette thèse.

Je tiens à remercier Monsieur le Docteur Lounès Haroune, je le prie de trouver ici l'expression de ma profonde gratitude pour l'honneur qu'il me fait de participer au jury.

Je suis particulièrement sensible et honorée de l'honneur que nous font Madame le professeure Satinder Kaur Brar et Madame le professeure Debra Hausladen, de participer au jury, je les prie de trouver ici l'expression de ma respectueuse gratitude.

Que tous ceux qui m'ont aidé trouvent ici l'expression de ma reconnaissance.

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ	I
DÉDICACES.....	II
REMERCIEMENTS	III
TABLE DES MATIÈRES.....	IV
LISTES DES FIGURES.....	VI
LISTES DES TABLEAUX	VII
LISTES DES ABRÉVIATIONS.....	VIII
1 CHAPITRE I : INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
2 CHAPITRE II : REVUE DE LITTÉRATURE	6
2.1 Avant-propos.....	6
2.2 Le développement analytique	6
2.2.1 La méthode QuEChERS.....	7
2.2.2 La chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem.....	9
2.3 Les contaminants organiques à l'état de trace dans l'environnement	10
2.3.1 Les TrOCs dans l'environnement aqueux.....	10
2.3.2 Les TrOCs dans les biosolides municipaux.....	12
2.3.3 La mobilité des TrOCs à partir des biosolides municipaux	14
2.4 Les champignons de la pourriture blanche de bois et leurs enzymes lignolytiques	15
2.4.1 Les enzymes lignolytiques et leurs potentiels de biorémédiation des TrOCs	15
2.4.2 Les champignons vecteurs de la pourriture blanche de bois et leurs potentiels de biorémédiation.....	16
2.5 La réduction du volume des biosolides municipaux	20
2.6 Synthèse de la revue critique de la littérature.....	21
3 CHAPITRE III: DÉVELOPPEMENT D'UNE MÉTHODE MULTIRÉSIDUS PERMETTANT LA DÉTECTION ET LA QUANTIFICATION DE CONTAMINANTS ORGANIQUE A L'ÉTAT DE TRACES DANS DES MATRICES ENVIRONNEMENTALES	23
3.1 Introduction.....	23
3.2 Matériels et méthodes	25
3.2.1 Produits chimiques et réactifs	25
3.2.2 Échantillonnage.....	25
3.2.3 Optimisation de la méthode QuEChERS.....	26
3.2.4 Extraction des TrOCs	26
3.2.5 Chromatographie et analyse en spectrométrie de masse	27
3.2.6 Validation de la méthode.....	29
3.3 Résultats et discussion.....	29
3.3.1 Conception expérimentale et fonction de désirabilité	29
3.3.2 Exactitude, précision et spécificité	34
3.3.3 Application de la méthode à des échantillons environnementaux réels	36
3.4 Conclusion	37
4 CHAPITRE IV : PRÉSENCE DES CONTAMINANTS À L'ÉTAT DE TRACE DANS LES STATIONS D'ÉPURATIONS	38

4.1	Introduction	38
4.2	Matériels et méthodes	39
4.2.1	<i>Produits chimiques et réactifs</i>	39
4.2.2	<i>Échantillonnage</i>	39
4.2.3	<i>Préparation des échantillons</i>	40
4.2.4	<i>Analyse des échantillons</i>	41
4.2.5	<i>Évaluation du risque écotoxicologique</i>	41
4.3	Résultats et discussion	42
4.3.1	<i>La présence des TrOCs dans les STEPs</i>	42
4.3.2	<i>Efficacité de la STEP</i>	45
4.3.3	<i>Évaluation des risques environnementaux des TrOCs détectés</i>	46
4.4	Conclusion	47
4.5	Remerciements	48
5	CHAPITRE V : UTILISATION DES CHAMPIGNONS DE LA POURRITURE BLANCHE <i>TRAMETES HIRSUTA</i> ET <i>PLEUROTUS DRYINUS</i> POUR RÉDUIRE LE VOLUME DES BIOSOLIDES MUNICIPAUX ET LA TENEUR EN RÉSIDUS PHARMACEUTIQUES	49
5.1	Avant-propos	49
5.1.1	<i>Auteurs et affiliation</i>	49
5.1.2	<i>Présentation de l'article</i>	50
5.1.3	<i>Contribution des auteurs</i>	50
5.2	The use of white rot fungi <i>Trametes hirsuta</i> and <i>Pleurotus dryinus</i> to reduce municipal biosolids volume and pharmaceutical compounds content	51
5.2.1	<i>Abstract</i>	51
5.2.2	<i>Introduction</i>	52
5.2.3	<i>Materials and methods</i>	53
5.2.4	<i>Results and discussion</i>	56
5.2.5	<i>Conclusion</i>	60
5.2.6	<i>Acknowledgements</i>	60
6	CHAPITRE VI : CONCLUSION	61
7	APPENDIX	63
7.1	Appendix A	63
7.1.1	<i>Informations supplémentaires du chapitre 3</i>	63
7.2	Appendix B	76
7.2.1	<i>Informations supplémentaires du chapitre 4</i>	76
7.3	Appendix C	79
7.3.1	<i>Supplementary information: Use of white rot fungi <i>Trametes hirsuta</i> and <i>Pleurotus dryinus</i> to reduce municipal biosolids volume and pharmaceutical compounds content</i>	79
	RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	82

LISTES DES FIGURES

Figure 2-1: Étapes principales du développement analytique.....	6
Figure 2-2: Schéma des différentes étapes de la méthode QuEChERS	8
Figure 2-3: Fonctionnement global d'une station d'épuration.	10
Figure 2-4: Quantité massique de biosolides municipaux épandus au Québec [3]	12
Figure 2-5: Mécanismes d'action des WRF. [21]	19
Figure 3-1: Profil de désirabilité des effets du sel et du solvant (D =0.951).	31
Figure 3-2: Profil de désirabilité des effets de matrice en fonction du solvant	32
Figure 3-3: Profil de désirabilité pour le ratio EtOAc/H ₂ O.....	32
Figure 3-4: Profil de désirabilité pour la purification par micro-dispersion	33
Figure 3-5: Profil de désirabilité pour la masse de l'échantillon.....	34
Figure 4-1: Efficacité de la station d'épuration de Granby avec A pour l'acétaminophène et B pour la caféine.	44
Figure 4-2: Efficacité de la station d'épuration de Magog avec A pour l'acétaminophène et B pour la caféine.	44
Figure 4-4: Concentration de la carbamazépine, (A) STEP Grany, (B) STEP Magog	46
Figure 5-1: Biosolids volume reduction after 35 days of treatment with <i>T. hirsuta</i> and <i>P. dryinus</i> in media containing 12% (A) and 25% (B) of biosolids.	56
Figure 5-2: PhACs removal after 35 days of treatment with <i>T. hirsuta</i> and <i>P. dryinus</i> in media containing 12% (A) and 25% (B) of biosolids.....	58
Figure 5-3: Laccase activity for <i>T. hirsuta</i> and <i>P. dryinus</i> in media containing 12% (A) and 25% (B) of biosolids.	59
Figure 7-1: Geo-localization of sampling points.....	64
Figure 7-2: Average on 70 TrOCs percentage recovery for solvent and salt variation in sludge (spike = 100 ng/g, n=3) (A: NaCl/Na ₂ SO ₄ , B: NaCl/ Na ₂ SO ₄ /AcOam, C: NaCl/ Na ₂ SO ₄ /EDTA/ D: NaCl/ Na ₂ SO ₄ /AcOam/EDTA).	71
Figure 7-3: Average on 70 TrOCs percentage recovery for solvent and salt variation in sludge (spike = 100 ng/g, n=3) (A: NaCl/Na ₂ SO ₄ , B: NaCl/ Na ₂ SO ₄ /AcOam, C: NaCl/ Na ₂ SO ₄ /EDTA/ D: NaCl/ Na ₂ SO ₄ /AcOam/EDTA).	71

LISTES DES TABLEAUX

Table 2-1: Détermination des TrOCs dans les biosolides municipaux.	7
Table 2-2: Concentration de TrOCs dans les milieux aqueux en Amérique du Nord [9,10].	11
Table 2-3: Critères normés pour la valorisation des biosolides municipaux au Québec comme matières résiduelles fertilisantes. [3,4].	13
Table 2-4: Concentration de TrOCs dans les biosolides [10].....	14
Table 2-5: Caractéristiques des enzymes sélectionnées.	16
Table 3-1: Paramètres MS/MS utilisés pour la détermination des TrOCs.	28
Table 3-2: Performance de la méthode pour les biosolides municipaux. LOD and LOQ (n=5).	35
Table 3-3: Information quantitative pour les TrOCs ciblés dans les échantillons réels de biosolides, sédiments, et organismes benthiques	36
Table 4-1: Valeurs moyennes des composés quantifiés dans la STEP de Granby.....	42
Table 4-2: Valeurs moyennes des composés quantifiés dans la STEP de Magog.	43
Table 4-3: Pourcentage d'élimination des TrOCs ciblés dans les STEPs.	45
Table 4-4: Valeurs des quotients de risque (RQ) dans les effluents et les biosolides.	47
Table 5-1: Seed germination tests in biosolid amended soil.	59
Table 7-1: Developed methods for sludge extraction reported in literature.....	63
Table 7-2: Description of the selected compounds used for method development.....	63
Table 7-3: Geographical coordinates of sampling.	65
Table 7-4: Percentage of matrix effect for solvent and salt variation in sludge (A: NaCl/Na ₂ SO ₄ , B: NaCl/ Na ₂ SO ₄ /AcOam, C: NaCl/ Na ₂ SO ₄ /EDTA/ D: NaCl/ Na ₂ SO ₄ /AcOam/EDTA) (sd < 20).	65
Table 7-5: LOD and LOQ (n=3) For other matrices.	67
Table 7-6: General factorial designing the effect of solvent and salt.....	68
Table 7-7: General factorial designing the matrix effect.	68
Table 7-8: General factorial designing the effect of the volume ratio EtOAc/water.	68
Table 7-9: General factorial designing the effect of the dispersive solids phase extraction.	68
Table 7-10: General factorial designing the effect of the sample mass.	68
Table 7-11: Paramètres statistiques du modèle 2FI pour chaque condition optimisée.	69
Table 7-12: Percentage recovery for solvent and salt variation in sludge (spike = 100 ng/g, n=3, sd < 20) (A: NaCl/Na ₂ SO ₄ , B: NaCl/ Na ₂ SO ₄ /AcOam, C: NaCl/ Na ₂ SO ₄ /EDTA/ D: NaCl/ Na ₂ SO ₄ /AcOam/EDTA).	70
Table 7-13: Percentage recovery for the variation volume in sludge ((n=3) spike = 100 ng/g).	72
Table 7-14: Percentage recovery for the tested purification ((n=3) spiked sludge = 100 ng/g).	73
Table 7-15: Percentage recovery for the mass variation ((n=3) spiked sludge = 100 ng/g).	74
Table 7-16: Method performances for sediment and benthic organism samples: accuracy and precision (n=3).	75
Table 7-17: Description of the selected compounds.	76
Table 7-18: Geographical coordinates of sampling.	77
Table 7-19: Parameters used for the determination of targeted compounds for the MS/MS analysis. ...	77
Table 7-20: The parameters used for PNEC calculation.	78
Table 7-21: The PNEC values for both effluent and biosolids.	78
Table 7-22: Physicochemical characteristics of the biosolid Physicochemical characteristics of the biosolid.....	80
Table 7-23: Mass spectrometry parameters used for the quantification of the selected PhACs.	80
Table 7-24: Kinetics of PhAC elimination by <i>T. hirsuta</i> and <i>P. dryinus</i> (SD* < 5%)	81
Table 7-25: Kinetics of laccase production by <i>T. hirsuta</i> and <i>P. dryinus</i> (SD* < 5%)	81

LISTES DES ABRÉVIATIONS

TrOCs : Contaminants organiques à l'état de trace
UPLC : Ultra Performance Liquid Chromatography
MS : Spectromètre de masse (Mass Spectrometry)
UPLC-MS-MS : UPLC couplé à la spectrométrie de masse en tandem
LOD: Limite of detection
LOQ: Limite of quantification
WRF : White-Rot-Fungi (champignon de la pourriture blanche)
LMEs : Lignin-Modified-Enzymes (enzymes lignilytiques)
LAC : Laccase
LiP : Lignine peroxydase
MnP : Manganese peroxydase
CYP450: Cytochrome P450
COD: Chemical oxygen demand
STEP: Station d'épuration
TS: Total solids
TDS: Total dissolved solids
TSS: Total suspended solids
SPE: Extraction en phase solide
dSPE: Dispersive extraction en phase solide
QuEChERS: Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe
NSAIDs: anti-inflammatoires non stéroïdiens
CBZ: carbamazepine
CAF: caffeine
WWTP: wastewater treatment plant
UAE: extraction assistée par ultrason
PLE: extraction liquide pressurisée
MAE: extraction assistée par microonde

1 CHAPITRE I : INTRODUCTION GÉNÉRALE

L'activité humaine liée au développement de la société n'est pas sans conséquence sur notre planète. De plus, l'augmentation et le vieillissement de la population et l'exigence d'une qualité de vie impliquent une production industrielle en perpétuelle expansion. Ces éléments favorisent une augmentation conséquente des déchets générés (matières organiques, eaux usées, biosolides municipaux, etc.) [1]. De nos jours, les stations d'épuration (STEP) sont en charge du traitement de nos eaux usées avant leur relargage dans l'environnement.

Le type de traitement variera en fonction de plusieurs facteurs, soit la densité de la population, l'origine des effluents à traiter (commercial, domestique, industriel, etc.) et des exigences réglementaires. Parmi les traitements conventionnels on retrouve le traitement par boues activées, il représente une méthode fiable et économique de réduction de la matière organique des effluents [2]. Une fois traitée les effluents générés sont rejetés directement dans l'environnement. La matière organique solide contenue dans les eaux usées après traitement est appelé biosolides et sont généralement de la matière organique riche en nutriment. Aujourd'hui, 42% des biosolides municipaux générés sont revalorisés pour un usage agricole, conditionnement des sols, ect..., 9% sont dédiés à l'enfouissement et 49% à l'incinération [3–5].

Toutefois, il est important de signaler que la présence d'autres éléments, potentiellement toxiques dans les biosolides municipaux, suscitent une vive attention au cours de ces dernières années. Généralement, les STEP conventionnelles n'éliminent pas totalement certains composés récalcitrants et conséquemment, ils sont déchargés continuellement dans l'environnement [6].

Les contaminants organiques à l'état de trace (TrOCs) sont des contaminants que l'on détecte au fur et à mesure de l'évolution des moyens analytiques [7,8]. Ils comprennent de nombreux contaminants tels que les résidus pharmaceutiques actifs PhACs, des retardateurs de flammes ou encore des pesticides. [9–11].

La persistance de ces contaminants, le potentiel de bioaccumulation et leurs potentiels effets néfastes aussi bien sur la santé humaine que sur les écosystèmes est à prendre en considération. Pour cela, il est important d'agir en ciblant les problématiques qui font qu'aujourd'hui

l'investigation et le développement technologique deviennent une voie prometteuse permettant la diminution des charges polluantes.

Alors qu'aujourd'hui les questions liées, à la qualité de l'environnement, prennent une place sans cesse croissante et deviennent un pilier du développement d'une société écoresponsable. Dans sa politique de gestion des matières résiduelles le gouvernement du Québec souhaite bannir d'ici 2020 l'enfouissement des biosolides municipaux par la valorisation de ces derniers [3]. Cette nouvelle approche visant à éradiquer progressivement l'enfouissement des matières résiduelles fertilisantes (MRF); l'épandage des biosolides municipaux permettra à terme la restauration des milieux dégradés, la diminution de l'émission de gaz à effet de serre liés au transport, la diminution de l'utilisation de fertilisants synthétiques et le recyclage d'élément primaire tel que le phosphore [12,13]. Cette alternative est devenue une pratique de plus en plus utilisée eu égard aux multiples avantages que procure la valorisation des MRF [3]. En effet, par traitement approprié (selon la nature et composition) cette valorisation représente une source importante en azote, phosphore et nutriments essentiels pour l'établissement et la croissance des végétaux [14].

Dans cette démarche environnementale notre problématique porte sur « ***Les procédés biotechnologiques peuvent-ils être une alternative à la réduction de la charge polluante en TrOCs? Et permettraient-ils d'assurer une meilleure gestion des biosolides municipaux générés?*** »

Un des paramètres clés de la mise en place de nouveaux traitements d'épuration est de pouvoir identifier, cibler de manière quantitative et qualitative les contaminants à éliminer. Cette étape cruciale passe par un développement de méthode analytique.

De plus en plus de chercheurs mettent en place des méthodes analytiques pour la quantification des TrOCs dans diverses matrices (matrices aqueuses ou solides). Cependant la plupart du temps les méthodes ainsi développées sont onéreuses et ne s'intéressent qu'à des classes spécifiques de composés (pharmaceutiques ou pesticides ou hormones ...) dans une matrice bien définie [15,16]. Malgré les avancées scientifiques dans le domaine du développement analytique, il est de plus en plus nécessaire de mettre à jour les méthodes, surtout de mettre en place des méthodes simplifiées, peu coûteuses, applicables à une multitude de composés (cocktail de molécules) et ceux dans diverses matrices complexes environnementales.

Cette persistance des TrOCs dans l'environnement a fait naître des systèmes physico-chimiques (ex. procédés d'oxydation avancée) ou biologiques (ex. bactéries, enzymes) pour réduire ces micropolluants. Ces technologies font preuve d'une efficacité reconnue, mais la plupart d'entre elles sont coûteuses ou nécessitent une conception complexe qui ne peut être appliquée, par conséquent à toutes les échelles [17].

À cet égard, des applications biotechnologiques ont émergé comme applications potentielles afin de contrer cette pollution [18–21]. Ces applications utilisant des bactéries ou des champignons semblent être une stratégie prometteuse pour atténuer la propagation et l'impact potentiel des micropolluants sur l'environnement.

Bien que les bactéries soient largement utilisées dans le processus de bioremédiation, les champignons ont aussi un rôle intéressant, en particulier les champignons responsables de la pourriture blanche de bois (*white rot fungi*, *WRF*), reconnus pour leur capacité à éliminer un large éventail de micropolluants [17]. Ces champignons sont connus pour leurs compétences à produire une variété de protéines extracellulaires, plus particulièrement des enzymes (catalyseurs naturels), d'acides organiques, ainsi que d'autres métabolites, avec leur habilité à s'adapter à des environnements difficiles.

Les champignons de la pourriture blanche sont ceux qui ont le plus d'intérêt pour leur pouvoir de dégradation de la lignine, cellulose et hémicelluloses [22]. Sur la base de ces propriétés reportées, dont sont dotés ces champignons [22], que se base notre projet de recherche. En effet, la diversité et la capacité des enzymes des WRF à éliminer une large gamme de composés suggèrent que ces enzymes pourraient être utilisées pour convertir les micropolluants en composés plus sensibles à la biodégradation [23]. Également, de nombreuses études ont déjà mis en avant l'efficacité de certaines souches fongiques ainsi que leurs enzymes dans l'élimination des TrOCs, ce qui en fait une voie prometteuse pour un traitement alternatif ou complémentaire.

Ainsi cette approche de bioremédiation par voie fongique apparaît comme une approche intéressante permettant la diminution de la charge en TrOCs présents dans les biosolides municipaux. Aussi, l'utilisation des biosolides municipaux, comme substrat de croissance pour ces champignons, peuvent représenter une voie écologique permettant à la fois de minimiser les

coûts relatifs à l'utilisation des milieux de culture synthétiques et de diversifier leur voie de valorisation [24]

L'étude de l'implication des WRF dans la réduction du volume des biosolides est également évaluée. En effet, réduire le volume des biosolides permettrait de réduire les frais relatifs au transport, la surface des sites d'entreposage, l'émission de gaz à effet de serre et également les frais d'opération qui représente plus de 50% des coûts associés à la gestion des eaux usées [25]. À ce jour, différentes études sur la réduction du volume des biosolides ont été entreprises pour conforter la nécessité d'une meilleure gestion des biosolides dans un souci de réduction des impacts environnementaux. Cette réduction utilise souvent des techniques physico-chimiques (traitement thermique, oxydation avancée) et implique une forte utilisation de matières premières associée à un fort coût énergétique [6] ce qui peut limiter les instances gouvernementales dans leur politique de gestion des déchets.

Dans l'optique de concevoir des technologies moins dommageables pour l'environnement, et afin de répondre à nos questions de recherche, les objectifs de la présente étude évalueront :

- La mise en place d'une méthode analytique multiclasse applicable à l'extraction et la détection des TrOCs dans des matrices complexes environnementales telle que les biosolides,
- L'évaluation de la charge en TrOCs dans les biosolides municipaux en évaluant l'efficacité de deux stations d'épuration du Québec.
- L'évaluation de l'efficacité des traitements fongiques appliqués aux traitements des biosolides (diminution de la charge polluante des TrOCs, réduction du volume total).

Ce projet de recherche contribuera à la mise en place d'éléments essentiels permettant une caractérisation des biosolides municipaux sur 3 principaux axes ; (i) à l'échelle analytique, avoir une méthode permettant d'effectuer (ii) un état des lieux et estimation de l'efficacité des stations d'épuration au Québec et (iii) permettre une évaluation des approches prometteuses de bioremédiation.

Cette thèse regroupe plusieurs chapitres dont une revue de littérature (chapitre 2) qui permet de cerner l'état d'avancement des recherches en ce sens. La méthode analytique est présentée en

chapitre 3, la caractérisation des STEPs en chapitre 4, et l'évaluation biotechnologique du traitement des biosolides en chapitre 5. La conclusion générale est présentée en chapitre 6.

2 CHAPITRE II : REVUE DE LITTÉRATURE

2.1 Avant-propos

La revue de littérature porte sur les avancées scientifiques dans le domaine analytique et la gestion des biosolides municipaux. Ce chapitre regroupe également les différentes études établissant une base de données sur la présence, le comportement et persistance des TrOCs dans l'environnement. Elle ressort le fort potentiel des champignons vecteurs de la pourriture blanche de bois dans la bioremédiation des contaminants organiques (ex. composés pharmaceutiques). Elle caractérise également les enzymes impliquées ainsi que les méthodes et conditions de culture. La revue se termine par une revue critique de la littérature en soulignant la nécessité d'étendre les travaux de recherches réalisés à l'échelle laboratoire.

2.2 Le développement analytique

Au jour d'aujourd'hui de nombreuses méthodes analytiques dédiées à la détection et quantification des TrOCs ont vu le jour [26–28] dû à l'importance de cibler spécifiquement les TrOCs présents dans l'environnement.

Un développement analytique regroupe différentes étapes essentielles à l'aboutissement d'une méthode (figure 2.1).

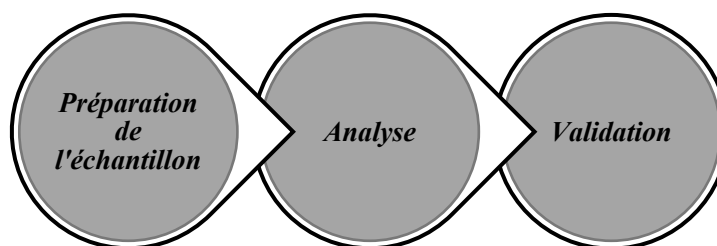


Figure 2-1: Étapes principales du développement analytique

Le choix de l'approche expérimentale va essentiellement dépendre de la matrice étudiée et des analytes ciblés [29]. Différentes méthodes pour la quantification des TrOCs ont vu le jour pour

une multitude de matrices (alimentaires, sédiments, eaux, biosolides municipaux, sols, insectes,) [27,30–32].

Nous portons un intérêt particulier aux méthodes permettant l'extraction et l'analyse des TrOCs dans les biosolides municipaux. Dû à la complexité de la matrice, différentes méthodes ont pu être développées à ce jour, elles se diversifient en fonction des composés recherchés. Le tableau 2.1, regroupe les méthodes analytiques appliquées aux biosolides municipaux.

Table 2-1: Détermination des TrOCs dans les biosolides municipaux.

Analytes	Matrices	Extraction	Purification	Recouvrement (%)	Analyse	References
Pesticides	Boues	Soxhlet	Silica-alumina	-	GC/MS	[33]
Pharmaceutiques	Boues	UAE	SPE	43-72	GC/MS	[34]
Pharmaceutiques	Boues	PLE	-	68-120	HPLC/MS	[35]
Pesticides	Boues	UAE	SPE (PSA)	80-113	HPLC/MS-MS	[36]
Pharmaceutiques	Boues	UAE	SPE	61-107	HPLC/DAD/FI	[37]
NSAIs	Boues	UAE	SPE-C18	98-107	GC/MS	[38]
Hormones	Boues	QuEChERS	dSPE	3-135	TOF/MS	[39]
Pharmaceutiques	Boues	UAE	-	76-131	LC/MS-MS	[40]
Antibiotiques	Boues	MAE	Salt cleaning	93-106	LC/MS	[31]
NSAIs	Boues	MAE	MgSO ₄ -NaCl	50	GC/MS	[41]
Pharmaceutiques	Boues	MAE	SPE	40-152	UPLC/MS-MS	[42]
Pharmaceutiques	Boues	UAE	-	70	GC/MS	[43]

Parmi les méthodes les plus répandues, on retrouve notamment l'extraction liquide pressurisée (PLE) et l'extraction assistée par ultrason (UAE) ces méthodes permettent d'atteindre des recouvrements de l'ordre de 120%. Cependant malgré leur fort potentiel d'extractions des composés ciblés, ces méthodes sont très énergivores et onéreuses [35,36].

On note aussi l'utilisation régulière de la méthode QuEChERS, cette dernière étant essentiellement développée pour la détermination des pesticides dans les matrices alimentaires [44].

2.2.1 La méthode QuEChERS

Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe (QuEChERS) ce sont ces mots qui définissent la méthode QuEChERS [44]. Initialement développé et validé par Anastassiades et al. 2003 [44] elle a longtemps été utilisée pour l'extraction de plus de 200 composés pesticides dans des fruits et légumes. Depuis 2010 la méthode a connu un essor et une évolution considérable par son adaptation à une plus grande variété de composés (ex. composés pharmaceutiques, hormones, hydrocarbure polycyclique...) et de matrices incluant les biosolides municipaux [45]. Cet essor est dû au fait que la méthode QuEChERS est facile (étapes simples) et économique (faible quantité de solvant, temps de manipulation réduit, ...).

Différentes étapes caractérisent la méthode QuEChERS (figure 2.2) :

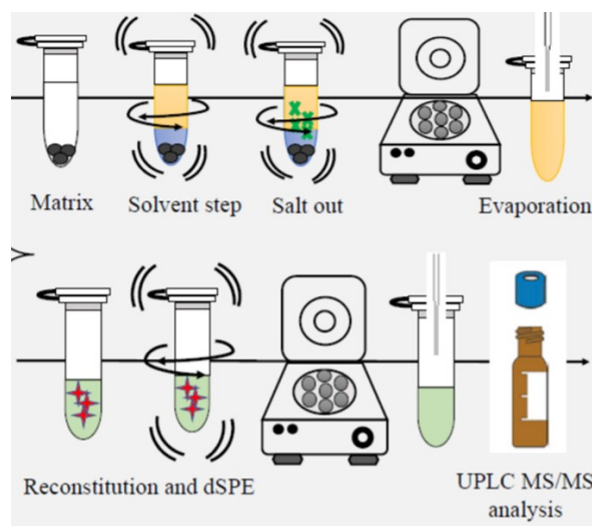


Figure 2-2: Schéma des différentes étapes de la méthode QuEChERS

La préparation d'échantillon et le relargage

Cette étape consiste à extraire les TrOCs présents dans la matrice par l'utilisation de solvants organiques. Le choix des solvants va dépendre essentiellement des caractéristiques physico-chimiques des analytes ciblés. En effet, le solvant va permettre de briser les interactions entre les molécules ciblées et la matrice. Plusieurs solvants, tels que l'acétone (Ace), l'acétate d'éthyle (AcOat) et l'acétonitrile (MeCN), ont été utilisés [27]. Cependant, MeCN est le plus souvent sélectionné comme solvant d'extraction, car il permet d'extraire un grand nombre de composés [27]. Afin d'augmenter l'efficacité de l'extraction, il se greffe à cette étape l'ajout de sels qui jouent un rôle important dans le transfert des TrOCs vers le solvant organique (force ionique, pH) [27]. Les sels utilisés sont le chlorure de sodium (NaCl) et le sulfate de magnésium (MgSO₄) en ratio 2:1 (NaCl : MgSO₄, w/w) [27].

La purification

Un des points influençant significativement le recouvrement final des analytes ciblés est l'effet de matrice. Les effets de matrices sont influencés par de nombreux facteurs, tels que les composés cibles, la matrice d'échantillon, le prétraitement, et l'instrumentation analytique [46]. Pour compenser les effets de matrices, une des voies empruntées par les scientifiques est l'étape de purification des échantillons.

La purification qui caractérise la méthode QuEChERS est l'extraction dispersive en phase solide (dSPE). La dSPE est considérée comme technique simple de préparation des échantillons et plus écologique applicable dans une large gamme d'échantillons environnementaux [47].

A la différence de la SPE classique la dSPE limite les étapes d'extraction mais également permet l'enlèvement des interférents par l'ajout directement d'un ou plusieurs sorbants à l'échantillon. Différents sorbants ont été évalués. Les plus populaires sorbants cités dans la littérature, utilisés en association ou séparément, incluent les amines secondaires primaires (PSA), la silice octadécylrique (C₁₈), le charbon activé (CA) ou encore le charbon noir graphité (GCB) [48]. Chaque sorbant va permettre d'éliminer une catégorie de composé considérée comme interférant dans le développement dans la méthode. La PSA est généralement utilisé pour éliminer les acides gras, les sucres, les acides organiques, les lipides et certains pigments, tandis que C₁₈ est particulièrement efficace pour l'élimination des lipides quant au CA et GCB sont utilisés pour les pigments co-extraits [48].

De manière générale l'approche QuEChERS est une méthode versatile, flexible capable d'être adaptée et modeler en fonction des objectifs à atteindre notamment en terme :

- Analytes ciblés,
- Matrice sélectionnée,
- Instrument analytique.

La méthode QuEChERS représente également une alternative fiable et non onéreuse en termes de coût associé à un développement analytique (solvants, main d'œuvre, énergie...).

2.2.2 La chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem

La méthode instrumentale est une des étapes pertinentes d'un développement analytique, car elle permet à la fois de détecter, de quantifier, et ce de façon spécifique les analytes d'intérêts. D'où l'importance d'avoir une méthode chromatographique sensible, juste et fiable.

Pour ce faire, la chromatographie en phase liquide (LC) couplée à la spectrométrie de masse en tandem (MS / MS) est devenue une approche de plus en plus répondue dans la sphère scientifique, car elle convient à l'analyse de composés avec une plage de polarité très large et à l'échelle trace (ng/L, ug/L) (table 2.1). Le quadripôle en tandem (triple quadripôle) est l'instrument par excellence utilisé pour la quantification des TrOCs. En effet, il offre le mode

d'analyse par le suivie des réactions multiples (Multiple Réaction Monitoring ou MRM). Ce mode de détection permet la meilleure sensibilité pour l'analyse multirésidue et la quantification à l'échelle trace [27,49].

2.3 Les contaminants organiques à l'état de trace dans l'environnement

Les contaminants organiques à l'état de trace (TrOCs) sont composés aussi bien de molécules naturelles que de molécules anthropiques [50]. Ils sont fréquemment détectés dans les eaux usées et les biosolides municipaux [50]. Il peut s'agir de résidus pharmaceutiques biologiquement actifs (PhACs), de produits de soins personnels, de pesticides ou encore des perturbateurs endocriniens (hormones naturelles, hormones synthétiques...) [51].

La résistance de certains TrOCs aux traitements conventionnels des eaux usées (Figure 2.3), implique leurs transferts dans l'environnement et l'augmentation des potentiels risques sur la santé humaine et sur l'écosystème, ce qui soulève des préoccupations au sein de la communauté scientifique [50].

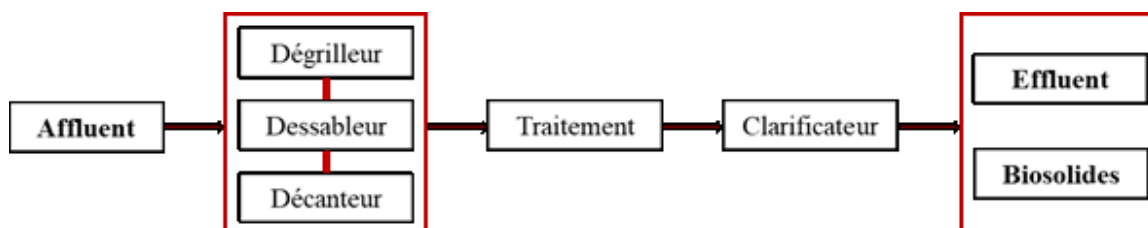


Figure 2-3: Fonctionnement global d'une station d'épuration.

Parmi les TrOCs qui suscitent un intérêt grandissant, on retrouve les composés PhACs (antibiotiques, anti-inflammatoires...) ou encore les pesticides (atrazine, métolachlore...).

Dû à leurs faibles éliminations au niveau des STEPs ces TrOCs sont systématiquement retrouvés dans l'environnement à des concentrations allant du ng/L au µg/L [11].

2.3.1 Les TrOCs dans l'environnement aqueux

La présence des TrOCs dans les matrices aqueuses (affluent, effluent, eaux potables, rivière, eau souterraine, eau de surface) est de plus en plus observée à l'échelle mondiale incluant l'Amérique du nord [52–54] (Table 2.2).

Table 2-2: Concentration de TrOCs dans les milieux aqueux en Amérique du Nord [9,10].

TrOCs	Affluent (ng/L)	Effluent (ng/L)	Eau de surface (ng/L)	Références
Ciprofloxacine	246100	620	-	[55]
Triméthoprim	6796	37000	-	[56,57]
Acétaminophène	21000	62000	-	[58,59]
Indométacine	640	507	-	[60]
Kétoprofène	60-150	40-90	-	[60]
Naproxène	Up to 25000	3500	-	[61]
Aténolol	Up to 2642	14200	13.3	[58,59]
Carbamazépine	440	28-551	-	[62,63]
Caféine	Up to 82882	37200	-	[58,59]
Atrazine	-	730	3.5	[64]

Cette présence et accumulation continue des TrOCs dans l'environnement aqueux expose les organismes vivants à de potentiels risques tels que l'apparition de résistance bactérienne ou des risques considérés toxiques tels que bioconcentration, changement physiologique,... [11]. De plus en plus d'étude s'intéresse aux effets toxiques des TrOCs dans les milieux aqueux.

En effet, certaines molécules telles que les composés pharmaceutiques sont fabriquées pour un effet bénéfique sur la santé humaine ou animale, les PhACs peuvent avoir un effet différent sur les organismes aquatiques soumis à l'exposition de ces molécules en continu. Les PhACs adoptent souvent des comportements similaires en ce qui concerne certains caractères (récepteurs finaux, lipophilie) [65] ce qui engendre des phénomènes de bioconcentration notamment observés chez le poisson *lephonis sp* où des teneurs de 0,11 à 5,14 ng/g de carbamazépine et de norfluoxétine ont été retrouvées au niveau des tissus [66], ou encore la présence de composés pharmaceutiques (gemfibrozil, diclofenac, ibuprofène, ketoprofène) au niveau du sang peut être aussi observée dans le cas des truites arc-en-ciel [67,68]. Des hypothèses mettent en avant que certains PhACs tels que les antidépresseurs (citalopram, venlafaxine) du fait de leurs actions inhibitrices sur le récepteur de la sérotonine, induiraient une accumulation de cette hormone dans les synapses, ce qui peut entraîner des changements physiologiques et de comportement chez les poissons [58].

Des espèces aquatiques telles que les carpes sauvages ou les truites arc-en-ciel, ont montrées également un changement de physiologie exprimé par la réduction de l'adsorption de la dopamine, ce qui révèle un effet pharmacologique de molécules comme la carbamazépine et l'ibuprofène [69], la toxicité de certains PhACs sur le zooplancton, et les organismes benthiques est observée à des concentrations équivalentes à celles retrouvées dans les effluents d'épurations [70].

Certains TrOCs peuvent être adsorbée aux biosolides municipaux [71]. ce qui explique que la disparition dans le milieu aqueux traité de certaines substances n’indique pas forcément leurs éliminations [72].

2.3.2 Les TrOCs dans les biosolides municipaux

Les biosolides municipaux représentent les solides produits durant le traitement des eaux usées [3]. La présence de matière organique, d’azote, phosphore et d’autres nutriments font des biosolides municipaux de bons matériaux valorisables pour l’épandage sur les terres agricoles [73].

L’épandage des biosolides municipaux est considéré comme une voie écologique de gestion de ce dernier. Par le fait que cette action contribue au recyclage des nutriments et l’amélioration de la fertilité des sols et par conséquent la limitation dans l’usage de fertilisant synthétique et chimique [74]. C’est pourquoi dans certains pays, comme les États-Unis, ils valorisent plus de 60% de leurs biosolides municipaux dans le domaine agricole [73]. Au Québec, les objectifs visent à bannir la matière organique des lieux d’élimination d’ici 2020 et en valoriser 60 % d’ici 2015 par la biométhanisation, le compostage et l’épandage des matières résiduelles fertilisantes [75].

À ce jour au Canada, l’application estimée des résidus fertilisants sur les terres est de 1,5M en 2015, dont 42% pour les biosolides municipaux [3]. Une nette augmentation de l’épandage des biosolides municipaux québécois a pu être observée au cours des dernières années. Celle-ci représente une augmentation de 49% entre 1999 et 2015 (figure 2.4).

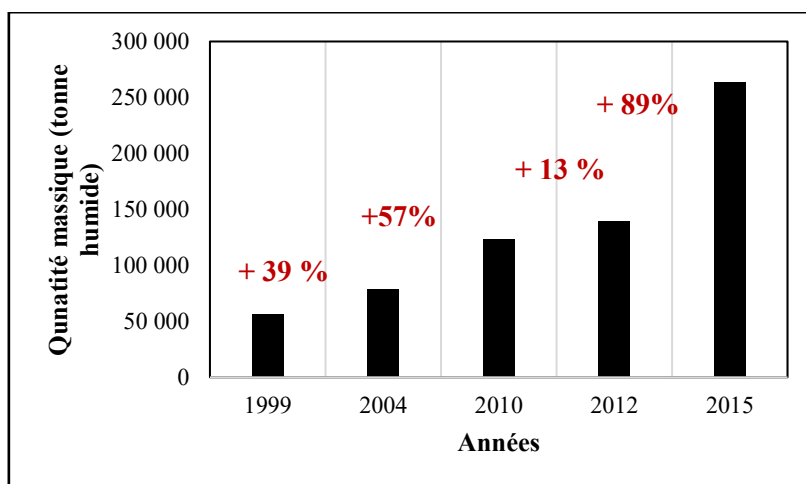


Figure 2-4: Quantité massique de biosolides municipaux épandus au Québec [3]

L'utilisation des biosolides municipaux sur les terres agricoles doit répondre à certaines normes imposées (Table 2.3) sur les concentrations maximales tolérables d'agents pathogènes, virus, les métaux lourds (arsénique, chrome...) et contaminants organiques pour cela des traitements qui consistent au séchage thermique ou encore la digestion aérobie à haute température sont utilisés afin de répondre aux critères de qualité des MRF [3,76].

Table 2-3: Critères normés pour la valorisation des biosolides municipaux au Québec comme matières résiduelles fertilisantes. [3,4].

Critères	Concentrations
<i>Teneurs en métaux</i>	
Cd	3-10 mg/Kg b.s
Cr	210-1060 mg/Kg b.s
Cu	400-1000 mg/Kg b.s
Hg	0.8-4.0 mg/Kg b.s
Ni	62-180 mg/Kg b.s
Pb	150-300 mg/Kg b.s
Zn	700-1850 mg/Kg b.s
As	13-41 mg/Kg b.s
Se	2-25 mg/Kg b.s
Mb	5-20 mg/Kg b.s
Co	34-150 mg/Kg b.s
<i>Teneurs en pathogènes</i>	
E.coli	< 2 000 000 UFC/g b. s
Salmonella	Salmonelles non détectées pour au moins 2 échantillons sur 3
<i>Teneurs en contaminants organiques</i>	
Dioxines et furanes	17-50 ng EQ T/Kg
BPC	Ne sont pas jugés préoccupants
HAP	Ne sont pas jugés préoccupants

Cependant, les biosolides municipaux peuvent contenir des substances indésirables non normées telles que les résidus pharmaceutiques actifs (PhACs) (ex. carbamazépine (CBZ), anti-inflammatoires non stéroïdiens (NSAIDs ...)) (table 2.4).

Table 2-4: Concentration de TrOCs dans les biosolides [10]

TrOcs	Concentration (ng/g)	Références
Ciprofloxacine	1780-160000	[55,77]
Triméthoprim	1.4-140	[55,77]
Acétaminophène	0-370	[55,78,79]
Indométacine	32-44	[78]
Kétoprofène	5-12	[78]
Naproxène	2.9-273	[55,78]
Carbamazépine	163-238	[77]
Caféine	18-643	[77,78]

L'utilisation des biosolides municipaux comme fertilisant sur les terres agricoles soulève le risque d'un transfert des molécules vers les sols récepteurs et par conséquent vers les plantes et un potentiel effet toxique pour ces dernières [80,81]. De plus la présence de TrOCs dans les biosolides municipaux augmente les risques de contamination des eaux par infiltration (eau souterraine) ou encore par ruissèlement (eau de surface).

2.3.3 La mobilité des TrOCs à partir des biosolides municipaux

L'usage fréquent des biosolides comme fertilisants a poussé certains chercheurs à étudier la mobilité des TrOCs contenus dans les biosolides vers les sols et les organismes vivant voisins [82–84]. Ces études ont ressorti le fait que les TrOCs présents dans les biosolides se déplacent vers le sol récepteur. Aussi dans certains cas (pH, microorganismes, ...) la molécule ciblée se dégrade en métabolite qui montre une bioaccumulation plus importante que celle du parent [82]. De plus cette mobilité des TrOCs, implique également la bioaccumulation de ces derniers dans les plantes essentiellement au niveau des racines [84]. Aussi, certaines plantes telles que la laitue (*Lactuca sativa*) à la capacité d'absorber certains résidus pharmaceutiques a des teneurs allant de 19 ug / kg à 30 ug / kg de poids sec pour le diclofénac et l'ibuprofène respectivement [85]. La mobilité des TrOCs a également été observée au niveau des organismes du sol. Dans cet écosystème très diversifié, les études montrent que les vers de terre sont des acteurs principaux dans le transport des contaminants environnementaux du sol vers d'autres réseaux trophiques terrestres [86]. Afin de mieux mettre en évidence la bioaccumulation possible des TrOCs dans les vers de terres, de nombreux chercheurs ont étudié ce phénomène [86–89].

Les études montrent que 60% des substances perfluoroalkyls sont bioaccumulés dans les vers de terre à partir de sols amendés avec des biosolides contaminés [89]. Dans d'autres cas, les études montrent une synergie entre les vers de terre et les plantes présentes dans leurs habitats.

En effet, Rivier et al, 2019 [87] a démontré que dans certains cas la présence de plante induit une diminution de la bioaccumulation de contaminant comme pour le nonylphenol, alors que dans le cas du triclosan la bioaccumulation est significativement augmentée.

2.4 Les champignons de la pourriture blanche de bois et leurs enzymes lignolytiques

2.4.1 Les enzymes lignolytiques et leurs potentiels de biorémédiation des TrOCs

Les enzymes lignolytiques (LME) sont des catalyseurs biologiques qui jouent un rôle crucial durant le cycle de vie des champignons vecteurs de la pourriture blanche de bois (*White Rot Fungi, WRF*) [22]. L'utilisation des enzymes a différentes échelles industrielles est devenue une pratique courante, telle que l'industrie pharmaceutique ou encore l'industrie agroalimentaire[90]. Les enzymes ont également trouvé leur place dans le monde environnemental notamment dans l'élimination des contaminants[22]. À cet effet, de nombreuses technologies ont vu le jour afin d'utiliser au mieux les enzymes d'origines fongiques ou autres. Différentes approches sont utilisées pour mettre en avant l'efficacité des enzymes lignolytiques dans la bioremédiation. L'utilisation de l'enzyme libre ou encore l'immobilisation de cette dernière sur support solide. L'application des LME en forme libre pour le traitement des polluants présente des barrières opérationnelles [91,92] : le coût de réutilisation, l'impossibilité de les recycler et la dénaturation de l'enzyme, du pH et la présence de certaines molécules dans le milieu influencent l'activité, la spécificité et l'action de l'enzyme. Les LME ont montré un fort potentiel d'élimination que ce soit sous forme libre ou immobilisée. Elles ont permis la réduction voire l'élimination d'une multitude de polluants phénolique et non phénolique [93]. En effet, plusieurs classes de PhACs ont pu être éliminées par l'action des LME [94,95].

L'élimination des TrOCs par les LME varie largement d'un composé à un autre. Les propriétés physico-chimiques des molécules cibles semblent être une des principales raisons pour une telle variation. Certains TrOCs par la présence de groupements fonctionnels donneurs d'électrons (GDE), les rendent sujets au catabolisme oxydative, tandis que d'autres présentant des groupements fonctionnels attracteurs d'électrons (GAE) sont résistants aux systèmes enzymatiques qui caractérisent les WRF. Néanmoins, la présence des deux groupements dans la structure moléculaire est aussi possible, comme observée chez les PhACs (ex. ibuprofène,

naproxène, sulfamethazine, diclofenac) qui montrent un taux d'élimination élevé par le système enzymatique des WRF [96].

Parmi les enzymes extracellulaires et oxydatives des WRF majoritairement connues on retrouve la laccase (lac), la lignine peroxydase (Lip) et la manganèse peroxydase (Mnp) (Tableau 2.5).

Table 2-5: Caractéristiques des enzymes sélectionnées.

Enzymes	Molécules oxydées	pH	T° (°C)	Masse (kDa)	Inhibiteur	Inducteur	Référence
Laccase (Lac)	Phénoliques	2-10	40-65	58-90	NaN ₃ , NaCl, Ag, Hg, Zn, Pb et H ₂ O ₂	Cu, Cd, Ni, No, Mn,	[97]
Manganèse peroxydase (Mnp)	Non phénoliques et phénoliques	4-7	40-60	32-62,5	H ₂ O ₂ , NaN ₃ , acide ascorbique, β-mercaptoethanol	Mn, glutathion, acide gras insaturé, tween 80	[97]
Lignine peroxydase (Lip)	Non phénoliques	2-5	35-55	37-50	H ₂ O ₂ , NaN ₃ , citytrimethylammonium bromide (CTAB)	H ₂ O ₂ ,	[97]

La majorité des études n'incluent pas d'information sur l'activité d'autres enzymes présentes dans les WRF. Pourtant la présence d'enzymes tels que les cytochromes P₄₅₀ qui sont des enzymes intra cellulaires, sont soupçonnées de jouer un rôle important dans la bioremédiation de plusieurs polluants [21,98,99].

2.4.2 Les champignons vecteurs de la pourriture blanche de bois et leurs potentiels de biorémédiation

Les champignons vecteurs de la pourriture blanche de bois (*White Rot Fungi*, *WRF*) ont suscité un vif intérêt au sein de la communauté scientifique. Appartenant au groupe des basidiomycètes et ascomycètes, ils sont considérés comme un groupe très intéressant de champignons, compte tenu de leurs capacités d'adaptation exceptionnelles qui leur permettent de se développer dans des conditions préjudiciables à l'environnement où ils agissent constamment comme dégradeurs

naturels de la lignocellulose. Ils peuvent décomposer les polymères de bois, y compris la lignine, ce qui laisse le bois avec un aspect fibreux blanc [100].

Contenu de la diversité et de la complexité structurale de la lignine, les WRF s'avèrent être une alternative prometteuse dans la bioremédiation d'une multitude de polluants qui présentent une similitude de structure avec la lignine, tout en étant caractérisés par la production de biomolécules (ex. enzymes) à forte valeur ajoutée [101].

Les WRF sont connus pour coloniser et croître sur des substrats solides dans leurs habitats naturels [97,102,103], ils ont aussi la capacité de croissance en milieu liquide et semi-liquide [104].

La croissance sur support solide des WRF est caractérisée par l'extension de ces hyphes, ce qui leur permet de coloniser une large surface polluée et donc d'atteindre plus de polluants [22,105]. Les WRF sont caractérisés par une fermentation aérobie ce qui fait que l'oxygène est nécessaire en tant que précurseur à la fois pendant la décomposition des substrats et la sécrétion des enzymes ligninolytiques associées. Ainsi un apport limité en oxygène entrave la croissance des hyphes [106].

La capacité du WRF à éliminer une large gamme de polluants a fait que leur application s'est étendue à plusieurs types de matrices. Notamment la décoloration, la déchloration et la détoxification d'effluents de l'installation de blanchiment hautement toxiques issus de l'industrie papetière. De même, pour divers hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) dans des milieux liquides et des sols contaminés [107].

Plus récemment, les études se sont orientées vers les contaminants d'intérêt émergent et plus précisément les PhACs [19,21,108]. Les approches sur l'élimination des PhACs sont naissantes et la plupart des travaux ont été réalisés en milieux aqueux. Certaines de ces études ont aussi utilisé les WRF sur des matrices types biosolides municipaux menant à différentes configurations à l'échelle du réacteur [107,109].

Bioremédiation en milieux aqueux

Les souches comme *Phanerochaete chrysosporium* et *Trametes versicolor* ont montré une capacité d'élimination d'une multitude de classes pharmaceutiques. Il s'agit, notamment, de l'élimination totale d'anti-inflammatoires [71,98,110] (ex. diclofenac, ibuprofène et naproxène), ou encore l'élimination de la carbamazépine où le pourcentage de dégradation varie

selon la souche sélectionnée. Par exemple *P. chrysosporium* arrive à l'éliminer à hauteur de 70% [18], alors que *T. versicolor* élimine 95% de CBZ présent dans le milieu [19].

Une récente étude a étendu les essais sur différentes classes thérapeutiques (anti-cancéreux, stimulants, régulateurs lipidiques, antibiotiques, analgésiques, etc.). Les résultats ont permis de montrer la capacité de la souche fongique *T. hirsuta* à éliminer les molécules ciblées en prenant en compte à la fois l'effet de la concentration et l'effet du cocktail [21,99].

Bioremédiation sur biosolides municipaux

Certains chercheurs se concentrent sur l'application des WRF sur des matrices solides et plus complexes telles que les biosolides municipaux. Cette approche permet de voir l'habilité des souches fongiques à croître et à éliminer les PhACs dans un cadre moins contrôlé. À cet effet, la colonisation et la dégradation de produits pharmaceutiques enrichis dans des matrices solides ont été démontrées par *T. versicolor*. Les essais menés par Rodriguez-Rodriguez et al (2010, 2011) [104,109] ont montré que pour des molécules comme le diclofénac, l'ibuprofène et le naproxène, leurs éliminations est comprise entre 40-50%. Des taux similaires ont été obtenus pour la carbamazépine, pour cette dernière les expérimentations ont été faites selon deux phases, la première phase consistée à faire un mélange de 25% de biosolides dans du milieu de culture (bioslurry) ce qui a permis au bout de 24h une remédiation de l'ordre de 57% pour carbamazépine. La seconde phase consistait à inoculer le champignon directement sur les biosolides pour favoriser la croissance à l'état solide, donnant ainsi des taux d'élimination de l'ordre de 48% [104]. De plus, dans certains cas, 100% des contaminants (cimétadine, bésafibrate, fénofibrate et atenolol) présents dans les biosolides municipaux sont éliminés par *T. versicolor* [109].

La capacité de dégradation des WRF a été démontrée par de nombreuses études et continue d'être étudiée. Les variations d'élimination dépendent de la souche sélectionnée, le milieu de culture (aqueux ou solide), la nature des contaminants présents et enfin du système enzymatique. En effet, la variation de la composition du milieu de culture influence la production enzymatique chez les WRF. Ainsi, il a été constaté que la croissance à l'état solide augmente l'efficacité du processus de production d'enzymes par rapport à la croissance en culture submergée, dans laquelle les substrats et les champignons se trouvent sous la surface [111,112]. Notamment, dans le cas de *Phanerochaete chrysosporium* qui montre une forte activité de Lip et Mnp dans un

milieu solide, contrairement à la souche *Coriolus pubescens* qui produit plus de la Lac en milieu liquide [113–115]. Cependant, il est possible que certaines souches comme *Trametes hirsuta* secrète dans le milieu de la laccase de façon prédominante [21,99].

En plus de l'influence du milieu, l'ajout d'un médiateur qui va jouer le rôle de navette pour électrons entre l'enzyme oxydative et les molécules cibles, permet d'améliorer le degré d'oxydation des composés [116].

Les chemins empruntés par les WRF pour l'élimination des contaminants restent à approfondir. Cependant, une étude récente [21] met en avant la versatilité d'action des WRF à la fois par des phénomènes enzymatiques que par des phénomènes d'adsorption (figure 2.5). L'étude réalisée par Haroune et al, 2017 [21], montrent que l'élimination de plusieurs TrOCs est un processus en plusieurs étapes impliquant une absorption rapide et active des TrOCs, suivie d'une dégradation intracellulaire par des voies enzymatiques complexes (y compris le CYP450). Les produits de dégradation intracellulaire peuvent ensuite être excrétés vers le milieu externe pour d'autres transformations par des enzymes extracellulaires.

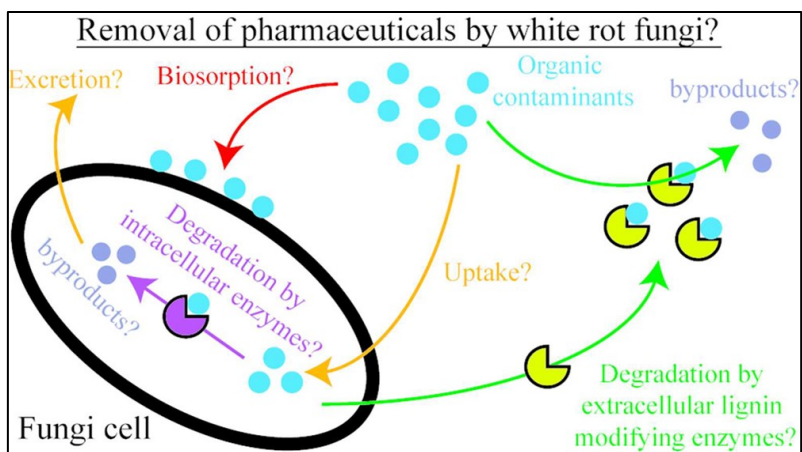


Figure 2-5: Mécanismes d'action des WRF. [21]

Les WRF empruntent des voies complexes de transformation des TrOCs et ce par un mécanisme d'échange entre les milieux (extracellulaires et intracellulaires), par la biosorption et par l'interaction entre l'activité des enzymes intracellulaires et extracellulaires.

2.5 La réduction du volume des biosolides municipaux

Les usines de traitement des eaux usées ont augmenté les quantités de biosolides produits en raison de l'augmentation constante de la population et de la qualité de la vie [117]. Pour cela, la gestion des biosolides générés est devenue une préoccupation croissante. En effet, la gestion du recyclage des boues affecte le développement d'une société engagée à bâtir une économie à faibles émissions de carbone [118]. L'un des paramètres clés de la gestion des boues est la réduction de leur volume. Cette approche facilitera leur transport, leur élimination et leur valorisation. L'enfouissement et l'incinération sont les méthodes conventionnelles utilisées pour éliminer les boues. Cependant, ces deux approches impliquent une occupation continue des terres, des coûts opérationnels et une contrainte en termes de réglementation en matière de santé et de protection de l'environnement [119]. De ce fait, différentes méthodes et stratégies ont vu le jour afin d'éliminer les boues d'épuration.

Des traitements chimiques qui utilisent des substances oxydantes [120,121]. Des traitements thermiques ou encore des traitements par ultrasons ont été largement utilisés pour la solubilisation des boues [122]. Dans d'autres cas, une combinaison de traitement (chimique et mécanique) est envisagée comme stratégie de réduction des boues [123].

De nos jours, l'utilisation d'organismes biologiques tels que les bactéries ou les champignons filamenteux est devenue une approche respectueuse de l'environnement et de plus en plus répandue [124]. De manière générale, on distingue les modes de traitement biologique aérobie et anaérobie. Le mode anaérobie a connu un essor important appuyé par de nombreux travaux de recherche en lien direct avec son intérêt énergétique à produire du méthane [125]. Dans cette dynamique, l'utilisation des champignons a également connu un élan particulier au cours des dernières années. Notamment par la mise en place d'un procédé de réduction du volume nommé le procédé MycET. Il s'agit d'un procédé de dégradation des molécules organiques par des champignons en culture aérobie [125].

L'efficacité des traitements biologique est liée essentiellement à la capacité des bactéries ou encore des champignons à sécréter une multitude d'enzymes extracellulaires tels que les carbohydrases, les protéases, les hydrolases [126,127] leur permettant ainsi de dégrader les grosses molécules présentes dans les boues afin les assimiler et/ou les adsorber [124].

2.6 Synthèse de la revue critique de la littérature

Bien que l'environnement mondial suscite de plus en plus d'inquiétudes au sujet des micropolluants organiques émergents tels que les produits pharmaceutiques, les produits de soins personnels et les pesticides, il subsiste un manque d'informations sur leur présence dans l'environnement. L'irrigation avec les eaux usées traitées et l'épandage de biosolides sur les terres agricoles exposent l'agroenvironnement aux TrOCs de manière continue pouvant ainsi impliquer le déplacement de la charge polluante vers les organismes vivant avoisinant.

La mise en place de méthode analytique reste très diversifiée, mais implique des coûts élevés et des méthodes systématiquement implémentées pour une même catégorie de micropolluants dans une matrice unique bien définie. Malgré l'évolution des méthodes analytiques et la diversification de ces dernières, on remarque que la plupart des recherches porte souvent sur les mêmes composés (résidus pharmaceutiques, hormones) peu de données sont disponibles quant au développement de méthode pour d'autres composés (pesticides) dans les biosolides municipaux ou matrices environnementales plus complexes. L'étude d'autres composés dans différentes matrices complexes et la mise en place d'une méthode simplifiée et rapide pour la détermination d'un cocktail de composés reste toujours d'actualité.

Les différentes études menées sur les champignons vecteurs de la pourriture blanche du bois (WRF) montrent une certaine limite quant à l'élimination des pharmaceutiques récalcitrants. La plupart des études sont réalisées dans une matrice contrôlée, notamment au niveau des concentrations en TrOCs qui restent beaucoup plus élevées que ce qui est retrouvé à l'échelle environnementale. Aussi plusieurs paramètres (pH, T°, composition du milieu de culture, etc.) font que la croissance des champignons est optimisée. D'autres parts, la majorité des travaux se focalise sur l'étude d'une molécule à la fois, rare sont ceux qui prennent en compte l'effet cocktail et synergique que pourrait avoir le mélange. Ce qui implique que les résultats obtenus à l'échelle réduite ne seront pas systématiquement retrouvés à plus grande échelle. Aussi la faisabilité du champignon pour l'élimination des polluants est à vérifier et à explorer davantage lors de l'application de ce dernier dans un environnement plus complexe (ex. biosolides municipaux) afin de voir le réel potentiel des WRF à croître, à synthétiser les enzymes et à assainir le milieu contaminé. Néanmoins, une application directe des WRF aux biosolides municipaux ouvre une toute nouvelle gamme de procédés intéressants de décontamination plus

respectueux de l'environnement. Offrant ainsi plusieurs alternatives aux boues d'épuration traitées : agriculture, biotechnologie et une gestion propre.

À ce stade où les enjeux environnementaux sont une priorité mondiale, il est important de mettre en place :

- Une méthode analytique polyvalente pouvant être appliquée à différentes matrices environnementales,
- Une base de données sur la présence des TrOCs présents afin de cibler ce que l'on cherche à éliminer,
- Mise en place de technologie d'élimination permettant d'atteindre nos objectifs de façon écoresponsable et offrir ainsi une meilleure fin de vie aux matrices complexes (type biosolides municipaux).

C'est pourquoi ce projet de thèse tente d'apporter un complément d'information à la sphère scientifique afin de répondre à ces différentes problématiques.

3 CHAPITRE III: DÉVELOPPEMENT D'UNE MÉTHODE MULTIRÉSIDUS PERMETTANT LA DÉTECTION ET LA QUANTIFICATION DE CONTAMINANTS ORGANIQUES A L'ÉTAT DE TRACES DANS DES MATRICES ENVIRONNEMENTALES

3.1 Introduction

Au cours des dernières années, l'utilisation des boues d'épuration comme matière résiduelle fertilisante sur les sols pour la fertilisation des cultures est de plus en plus grandissante, car elle est considérée comme une alternative à faible coût en comparaison avec les engrais chimiques (azote et phosphore) et une manière durable de valoriser ces déchets. Au Québec (Canada), 60% de tous les biosolides sont valorisés pour l'amélioration de la qualité des sols [3]. Les biosolides générés après traitement des eaux usées contiennent des composés organiques à l'état de trace (TrOCs) tels que les produits pharmaceutiques et les pesticides qui sont une source potentielle de contamination de l'environnement [3,79,128,129]. La réglementation environnementale pour l'application des biosolides sur le sol comprend des limites de concentration pour les métaux et les agents pathogènes, mais la réglementation des TrOCs fait défaut [4].

La quantification des TrOCs dans les échantillons environnementaux est essentielle à l'évaluation du devenir de l'impact environnemental des TrOCs après l'application de biosolides. L'analyse d'échantillons solides (par exemple, le sol, les sédiments et les boues) est une tâche plus difficile que les échantillons d'eau (tableau 7-1 dans l'annexe A).

Plusieurs approches ont été développées pour extraire et analyser les TrOCs à partir d'échantillons solides, tels que Soxhelt [33], l'extraction liquide sous pression (PLE) [35], et l'extraction assistée par ultrasons (UAE) [40]. Ces méthodes nécessitent un équipement relativement sophistiqué et coûteux et elles sont énergivores en solvants et en temps [40,128]. En 2003, Anastassiades et al, (2003) [44] ont développé la méthode rapide, facile, bon marché, efficace, robuste et sûre (QuEChERS) pour l'extraction et l'analyse des résidus de pesticides dans les matrices alimentaires solides (par exemple, les fruits). Cette méthode a été étendue avec succès à l'analyse des pesticides et des produits pharmaceutiques dans une grande variété de matrices environnementales, y compris les boues [41,52,130]. En raison de la grande complexité

des matrices solides environnementales (ex. biosolides, sédiments, organismes aquatiques) [131], la préparation des échantillons doit inclure une étape de purification, souvent réalisée par extraction en phase solide (SPE), pour réduire l'effet de matrice [132] [44,47,133]. L'efficacité de cette étape de purification dépend des propriétés de la matrice, des propriétés des composés ciblés et du choix du sorbant SPE (ex. C₁₈, silice, sorbant polymère) [48,134] et du solvant d'extraction. Transposer une méthode d'une matrice solide à une autre ou développer une méthode pour plusieurs matrices solides ou plusieurs composés peut ainsi entraîner un développement long et fastidieux. Aujourd'hui, alors que les préoccupations environnementales sont un enjeu majeur, il est important de pouvoir développer une méthode respectueuse de l'environnement en diminuant le temps de fonctionnement, la quantité de solvant et la consommation. Le développement et l'optimisation de méthodologies analytiques par les méthodes classiques implique un nombre d'essais important (ce qui entraîne une consommation élevée et consommable tels le solvant d'extraction, les sels de purification...) et une grande variété et quantité de données à traiter. Pour surmonter cet aspect, plusieurs approches sont utilisées pour l'interprétation des données (chimométrie, etc ...) [135].

En effet, des outils sont disponibles pour guider et simplifier le développement et l'optimisation des méthodes analytiques. Dans ce contexte, l'optimisation de plusieurs paramètres pour plusieurs molécules nécessite une approche fiable et robuste pour la sélection de la condition optimale de chaque variable. A cet effet, la fonction de désirabilité représente un outil statistique avantageux pour trouver les conditions expérimentales (niveaux de facteurs) pour atteindre, simultanément, la valeur optimale pour toutes les variables évaluées lors du développement et de la procédure d'optimisation [140,141]. Cette approche fiable et robuste utilise une solution de compromis avec les propriétés de réponse souhaitées (ie, la récupération la plus élevée, les effets d'interférence et de matrice les plus faibles, etc.). La fonction de désirabilité est largement utilisée pour l'optimisation de processus de réponse multiples dans l'industrie [136–138]. De plus, elle a été évaluée comme une approche hautement compétitive qui peut rivaliser avec d'autres méthodes conçues pour bien fonctionner dans des conditions défavorables et les mesures d'optimisation justifient son utilisation dans des problèmes réels [137,139].

L'objectif de cette étude est de développer et optimiser une méthode analytique multirésidus en utilisant la fonction de désirabilité comme référence et comme critère ultime l'extraction, la purification et la quantification de 70 composés ciblés (54 pesticides et 16 produits

pharmaceutiques) dans les biosolides. Nous avons testé la robustesse de la méthode pour d'autres matrices environnementales (c'est-à-dire les sédiments et deux organismes benthiques (*Chironomeadae* et *Oligochaetae*)).

3.2 Matériels et méthodes

3.2.1 Produits chimiques et réactifs

Tous les produits chimiques utilisés dans ce travail étaient de qualité analytique. Le méthanol (MeOH), l'acétonitrile (MeCN) (qualité Optima® pour LC / MS), l'acétate d'éthyle (EtOac) et la diméthylcétone (DMK) ont été achetés auprès de Fisher Scientific (Ottawa, ON, Canada). Tous les réactifs, produits pharmaceutiques et étalons de pesticides, fournis sous forme solide (pureté > 95%), ont été achetés auprès de Sigma Aldrich (Saint-Louis, MO, USA). Les détails des molécules sélectionnées sont présentés dans le tableau 7-2 de l'annexe A.

3.2.2 Échantillonnage

Les biosolides utilisés pour le développement et l'optimisation de la méthode analytique ont été obtenus à la station d'épuration (STEP) de Magog (Qc, Canada). Les échantillons ont été collectés dans des bouteilles en verre ambre désactivées. La station d'épuration a une capacité totale de traitement de 30 000 habitants et génère environ 400 kg / jour de biosolides. Des échantillons de sédiments ont été prélevés aux lacs Massawipi et Montjoie (Qc, Canada) et ont été recueillis à l'aide d'un échantillonneur de bassin en plastique de 4 cm et transférés dans une bouteille en verre ambré. Les échantillons de biosolides et de sédiments ont été tamisés jusqu'à une taille finale de particules de 1 mm après 48h de lyophilisation. Les organismes benthiques ont été collectés dans le lac Massawipi (Qc, Canada). Après la collecte, les organismes ont été lavés à l'eau sur un tamis à mailles de 500 µm pour éliminer (ou au moins réduire) les sédiments résiduels et les matériaux fins (Figure 7-1, détails supplémentaires, Tableau 7-3 de l'annexe A). Tous les échantillons ont été lyophilisés à l'aide d'un lyophilisateur Sentinelle Vir Tis Sp Scientific 2.0 pendant 48h et stockés dans l'obscurité à -20°C avant extraction.

3.2.3 Optimisation de la méthode QuEChERS

Un plan factoriel général a été utilisé pour optimiser les paramètres clés de la méthode QuEChERS; solvant, les types de sels, le volume de solvant et la dSPE (Tableaux 7-6 à 7-10 de l'annexe A). Pour chaque étape (extraction, purification, ratio et masse), toutes les combinaisons ont été testées en triplicat et la valeur moyenne et la récupération globale moyenne (AOR) obtenue pour les 70 composés sélectionnés a été considéré comme réponse analytique. Un modèle d'interaction à deux facteurs (2FI) a été appliqué pour l'analyse statistique.

La sélection du facteur principal et optimal pour chaque condition a été effectuée à l'aide de la fonction de désirabilité. Cette méthode trouve les conditions de fonctionnement « x » qui fournissent les valeurs de réponse « les plus souhaitables » $Y_i(x)$. Ainsi, cette fonction permet de sélectionner les meilleures conditions expérimentales (par exemple 70% < récupérations < 120%; -20% < effets matriciels < + 20%) qui garantissent d'atteindre simultanément la valeur optimale pour toutes les variables évaluées. La désirabilité prend des valeurs comprises entre 0 et 1, où $d_i(Y_i) = 0$ pour une réponse indésirable, et $d_i(Y_i) = 1$ représente une réponse souhaitable [141]. Le logiciel Masslynx 4.1 (Waters, USA) a été utilisé pour l'acquisition et le traitement des données LC-MS / MS. Le logiciel Design Expert 8 (Stat-Ease, USA) a été utilisé pour le plan expérimental et la fonction de désirabilité.

Durant l'optimisation de l'extraction, deux facteurs sont évalués (solvants et sels de relargage), 3 niveaux sont considérés pour les solvants (EtOAc, MeCN, DMK) et 4 niveaux pour les sels de relargages (AmOAc) (NaCl / Na₂SO₄, NaCl / Na₂SO₄/ AmOAc, NaCl / Na₂SO₄ / EDTA, NaCl / Na₂SO₄ / AmOAc / EDTA) (Table 7-6 en annexe A). L'optimisation du ratio entre la phase aqueuse et organique (Table 7-8 en annexe A) a considérée deux facteurs (H₂O et EtOAc) avec 2 niveaux. Durant l'étape de purification, trois formulations de sels ont été évalués pour la purification dispersive (C₁₈ / Na₂SO₄, C₁₈ / MgSO₄, C₁₈ / Alumina). Chaque sel de purification est évalué à trois niveaux différents (Table 7-9 en annexe A). La dernière étape d'optimisation est la masse de l'échantillon où 1 facteur avec niveaux est considéré (Table 7-10 en annexe A).

3.2.4 Extraction des TrOCs

0.25 g d'échantillon sec a été transféré dans un tube Falcon de 50 ml. 1 ml d'eau acide (1% (v/v) d'acide formique) a été ajouté et les échantillons ont été vortexés pendant 60 secondes. 4 ml d'acétate d'éthyle (acide formique à 1%) ont été ajoutés et la solution a été mélangée jusqu'à la

formation d'une émulsion (~ 60 s). Après cela, 0.4 g de sulfate de sodium anhydride, 0.1 g de chlorure de sodium et 0.4 g d'acétate d'ammonium ont été ajoutés à la solution et immédiatement vortexés (60 secondes) pour éviter l'agglomération des sels. Le tube a ensuite été centrifugé à 4300 RPM pendant 20 min à 4°C. La phase organique (couche supérieure) a été collectée et évaporée à sec sous un léger flux d'azote à 40°C (bain de sable thermostaté). Le résidu sec a ensuite été dissous dans 1 ml d'acétonitrile à 100% (acide formique à 1% (v / v)), vortexé et soniqué pendant 30 secondes. Le mélange a été transféré dans un tube Eppendorf de 1,5 ml contenant les sels de purification (50 mg C₁₈ / 200 mg Na₂SO₄). Après cela, le tube est vortexé pendant 60 secondes et centrifugé 10 min à 4500 RPM à 4°C. Les échantillons ont été évaporés à sec puis reconstitués dans 250 µL d'un mélange eau-méthanol (1: 1; v / v) avec 0.1% d'acide formique. Enfin, les solutions ont été filtrées à l'aide d'une seringue filtrante en PTFE de 0.2 µm et analysées par spectrométrie de masse (LC-MS / MS).

3.2.5 Chromatographie et analyse en spectrométrie de masse

Les TrOCs sont analysés suivant la méthodologie de Haroune et al, 2015 [27]. Les analyses ont été effectuées en utilisant une source d'ionisation par électro spray positive (ESI +) en mode de surveillance multi-réaction (MRM) sur un spectromètre de masse Acquity UPLC XEVO TQ (Waters Corporation, Milford, MA) équipé d'une colonne Acquity UPLC HSS-T3 (100 mm × 2,1 mm, 1,8 µm). Le débit de solvant a été réglé à 0.40 mL/min et la température de la colonne a été maintenue à 35°C. Le volume d'échantillon injecté était de 5 µL. La phase mobile était constituée de 0.20% d'acide formique/eau (A) et de 0.20% d'acide formique/méthanol-acétonitrile (80:20 v/v) (B). Le gradient d'élution a commencé avec 5% d'éluant B pendant 1 min, a augmenté à 80% en 5 min, a augmenté à 90% en 2 min et maintenu 2 min, puis est revenu à 5% en 1 min. Le temps d'équilibrage était de 3 min pour un temps de parcours total de 13 min. Les paramètres optimisés de spectrométrie de masse sont détaillés dans le tableau 3-1.

Table 3-1: Paramètres MS/MS utilisés pour la détermination des TrOCs.

TrOCs	Ion parent		Ion 1 : Quantification		Ion 2 : Qualification	
	Precursor ion (m/z)	CT (V)	Product ion (m/z)	CE (V)	Product ion (m/z)	CE (V)
1-Naphtol	145	24	127	16	117	16
Acetaminophene	152	25	110	20	92.5	15
Acetamiprid	223	22	126	20	56	14
Aldicarb	191	10	116	4	89	12
Aldicarb-sulfone	223	20	86	14	148	8
Aldicarb-sulfoxide	207	14	132	6	89	12
Atenolol	267	30	190	25	154	20
Atrazine	216	24	96	24	104	28
Azinphos-methyl	317	10	132	14	125	18
Bendiocarb	224	14	109	16	167	8
Bentazon	239	34	132	24	197	20
Bezafibrate	362	25	316	25	138	15
Boscalid	343	28	307	20	140	20
Caféine	194	32	137	22	190	18
Carbamazepine	237	25	194	30	179	30
Carbaryl	202	14	145	10	127	26
Carbendazim	192	24	160	18	132	28
Carbofuran	222	18	123	22	165	12
Chlorfenvinphos	359	18	155	12	99	30
Chlorpyrifos	350	20	198	18	97	26
Chlortoluron	213	22	72	16	140	24
Ciprofloxacin	332	35	314	35	231	20
Clothianidin	250	16	132	16	169	12
Coumaphos	363	30	227	26	307	18
Cyanazine	241	24	214	16	104	28
Cyclphosphamide	260	35	139	20	105	20
Diazinon	305	20	169	20	153	20
Dimethoate	230	14	199	10	125	20
Dinotefuran	203	14	129	12	87	16
Diuron	233	18	72	18	160	26
Fenofibrate	361	30	273	15	233	15
Fludioxonil	247	42	126	30	169	34
Hexazinone	253	22	171	16	71	30
Ibuprofen	207	15	161	20	119	10
Imazethapyr	290	32	177	26	248	18
Imidacloprid	256	20	175	18	209	14
Indometacine	358	25	147	20	139	10
Iprodione	330	16	245	14	162	30
Isoproturon	207	22	72	18	134	22
Ketoprofen	255	25	177	25	105	20
Kresoxim-methyl	314	10	267	6	206	6
Linuron	249	22	160	16	182	16
Malathion	331	14	99	20	127	12
Mefenamic acid	242	20	224	40	180	15
Methibenzuron	222	16	165	16	150	32
Metobromuron	259	20	170	18	148	16
Metolachlor	284	20	252	16	176	26
Metoxuron	229	22	72	16	156	24
Monolinuron	215	20	126	16	148	16
Naproxen	231	20	185	45	115	10
Nitenpyram	271	18	56	26	225	14
Ofloxacin	362	30	318	30	261	20
O-Methoate	214	16	125	22	183	12
Parathion	292	18	236	14	94	38
Pendimethalin	282	12	212	10	194	18
Permethrin	408	12	183	8	355	16
Phosmet	318	14	160	14	133	38
Piperonyl butoxide	356	14	177	14	119	36
Pyraclostrobin	388	16	194	12	163	24
Pyrimethanil	200	36	107	24	82	24
Sebuthylazin	230	14	174	18	104	30
Simazine	202	26	132	18	124	18
Spinosad	732	34	142	26	98	58
Terbutylazine	230	22	174	16	96	26
Thiabendazole	202	42	175	24	131	32
Thiacloprid	253	28	126	20	186	14

Thiametoxam	292	16	211	12	181	24
Trifloxystrobin	409	20	144	48	185	18
Trimethoprim	291	40	261	25	230	25

3.2.6 Validation de la méthode

La méthode développée basée sur une QuEChERS optimisée et une analyse en LC-MS / MS, a été validée en termes d'exactitude et de précision [142]. La précision a été définie comme la récupération obtenue en testant la méthode à trois niveaux de concentration différents (5, 25, 100 ng/g) en utilisant au moins trois répétitions pour chaque matrice. Les effets de matrice (ME) ont été déterminés en utilisant la méthode de la courbe de régression. En bref, la pente d'une courbe d'étalonnage (courbes de régression en 9 points de 0.10 à 30.0 ng/mL) dans les matrices testées (boues, sédiments, organismes) et la pente d'une courbe d'étalonnage dans le solvant (méthanol aqueux acide) ont été comparés. Le ME a également été défini comme le pourcentage de la réponse d'un analyte dans la matrice et dans le solvant pur [27] (Tableau 7-4 de l'annexe A). La limite de détection (LOD) et la limite de quantification (LOQ) ont été déterminées dans la régression matricielle à l'aide de 5 répliques de solutions d'étalonnage pour minimiser les erreurs systématiques et 6 niveaux de concentration allant de 0.10 à 30.0 ng/mL. La LOD et la LOQ ont été calculées comme étant trois et dix fois l'erreur standard de la courbe d'étalonnage (Tableau 3-2 et tableau 7-5 de l'annexe A) [142].

3.3 Résultats et discussion

3.3.1 Conception expérimentale et fonction de désirabilité

Un plan factoriel général a permis de modéliser tous les paramètres clés considérés durant l'optimisation de la méthode QuEChERS; solvant, les types de sels, le volume de solvant et la dSPE (Tableaux 7-6 à 7-10 de l'annexe A). Le modèle statistique 2FI appliqué est significatif à tous les paramètres d'optimisation (Table 7-11 en annexe A) avec une valeur $P < 0,001$.

Nous avons d'abord optimisé le solvant d'extraction et les réactifs de relargage. Trois solvants, avec différentes solubilités dans l'eau qui affectent l'extraction des TrOCs, ont été testés; l'acétonitrile (MeCN), l'acétate d'éthyle (EtOAc) et l'acétone (DMK). Les sels de relargage (chlorure de sodium (NaCl) et sulfate de sodium (Na₂SO₄)) ont été testés avec de l'acide éthylènediaminetétraacétique (EDTA) et de l'acétate d'ammonium (AmOAc). L'acidification du

solvant peut améliorer la récupération en réduisant la liaison analyte-matrice (hydrogène, répulsion électrostatique) [27]. Ainsi, cinq concentrations d'acide formique (0.1, 0.5, 1, 5 et 10%) ont été testées. L'AOR le plus élevé a été atteint pour 1% d'acide formique (données non présentées). Tous les essais ultérieurs ont été réalisés avec des solvants d'extraction acidifiés avec 1% d'acide formique. Les récupérations individuelles et les AOR pour toutes les combinaisons de solvants d'extraction et de sels de relargage testés sont présentés dans le tableau 7-12 de l'annexe A.

L'utilisation d'une conception expérimentale et d'une fonction de désirabilité est une approche robuste pour faciliter l'optimisation. En utilisant une approche traditionnelle, où chaque paramètre est optimisé indépendamment, et l'AOR est utilisé comme critère de décision, aucune différence statistique dans les performances n'a pu être observée entre les solvants testés (Figure 7-2 de l'annexe A) ou les sels testés (Figure 7-3 de l'annexe A). En utilisant un modèle de conception factorielle générale testant 12 combinaisons sels / solvants (Figure 3-1 et tableau 7-6 de l'annexe A), la sélection des paramètres de la méthode guidée par la fonction de désirabilité a identifié la combinaison EtOAc et NaCl / Na₂SO₄ / AmOAc (fonction de désirabilité maximale ($D = 0.92$)) comme la combinaison la plus souhaitable pour les solvants et les sels d'extraction. À l'exception de 10 TrOCs (aldicarbe, aldicarbe-sulfoxyde, aténolol, ciprofloxacine, ifosfamide, iprodione, ofloxacine, parathion, perméthrine, phosmet) qui présentent des taux de récupération très faibles quel que soit les combinaisons testées. Cela pourrait s'expliquer par la formation d'un complexe stable avec des interférents présents dans les biosolides (par exemple, cation, ions métalliques) [39,47,76]. L'ajout d'EDTA au mélange de relargage (NaCl / Na₂SO₄), en tant que chélateur de métal fort, n'a amélioré que légèrement la récupération avec EtOAc. De plus, l'utilisation de sels améliore la purification en induisant une dénaturation des protéines (par exemple NaCl, AmOAc) ou en diminuant la réactivité de certaines espèces (c'est-à-dire les ions métalliques) [27,31,48]. Aussi, bien qu'aucune différence statistique n'ait été observée entre les solvants (Figure 7-2 et 7-3 de l'annexe A), la fonction de désirabilité a clairement rejeté le MeCN et le DMK, avec une désirabilité inférieure à 0.5 (Figure 3-1).

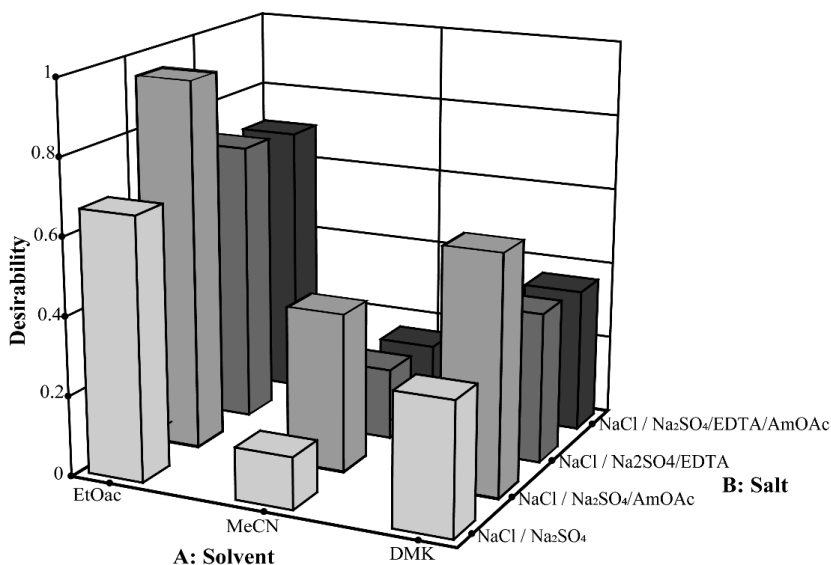


Figure 3-1: Profil de désirabilité des effets du sel et du solvant (D =0.951).

L'effet de matrice a été évalué comme décrit dans la section 3.2.5. Les résultats sont résumés dans le tableau 7-4 de l'annexe A. L'effet de matrice observé varie de -28.2 % pour le cyclophosphamide à +3.2 % pour bézafibrate et résulte principalement d'une suppression du signal. L'effet de matrice est probablement lié à la co-élution des analytes pendant l'étape d'ionisation dans l'UPLC/MS-MS [131,143].

Pour les approches de criblage multiplex des biosolides, un échantillon non contaminé pourrait être difficile à trouver, de même que les courbes d'étalonnage adaptées à la matrice pourraient être plus difficiles à appliquer en raison des différences entre les matrices biologiques et du changement continu de la composition à partir d'un site d'échantillonnage vers un autre. La préparation d'un étalon similaire à l'échantillon pourrait être un moyen plus facile d'obtenir une quantification acceptable (échantillons caractérisés par une faible biomasse). L'utilisation de la fonction de désirabilité a montré que le plus faible effet de matrice observé (Figure 3-2) a été obtenu avec l'EtOAc et la combinaison NaCl / Na₂SO₄ / AmOAc avec un effet de matrice moyen de -11.8%.

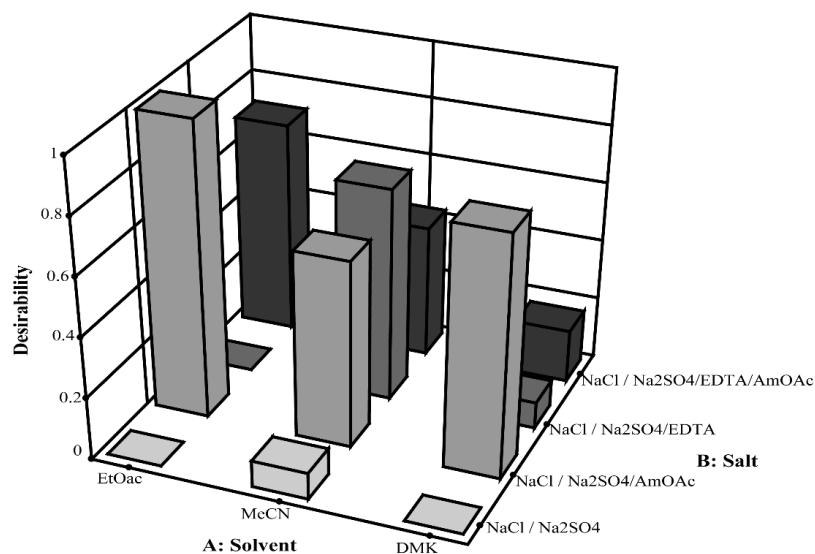


Figure 3-2: Profil de désirabilité des effets de matrice en fonction du solvant

L'efficacité de l'extraction par relargage est affectée par la partition du solvant et l'équilibre de solubilité. Nous avons ainsi testé l'effet de quatre ratios volumiques entre EtOAc / H₂O (1/4, 1/1, 4/4 et 4/1) sur l'efficacité d'extraction (Tableau 7-8 de l'annexe A). La figure 3-3 a montré que la désirabilité augmenté progressivement avec la diminution du volume d'eau de 4 ml à 1 ml, le rapport EtOAc / H₂O = 4/1 (v/v) a permis d'atteindre la plus grande désirabilité ($D = 0.92$, figure 3-3). Ainsi, le rapport 4/1 a été sélectionné pour une optimisation supplémentaire.

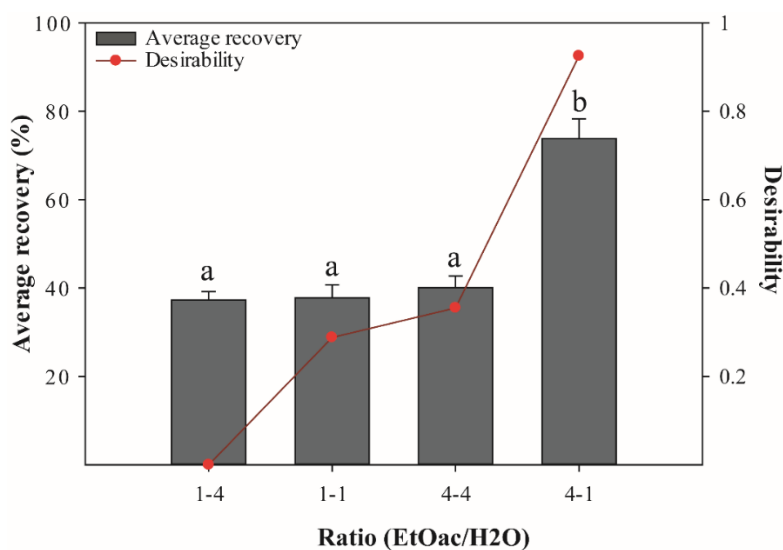


Figure 3-3: Profil de désirabilité pour le ratio EtOAc/H₂O

Nous avons ensuite optimisé l'étape de purification ou trois SPE dispersives (dSPE) ont été testées; C_{18}/Na_2SO_4 , $C_{18}/MgSO_4$ et $C_{18}/alumine$ avec 3 niveaux différents (50-200, 100-150, 200-50 m/m). Malheureusement, toutes les conditions contenant du carbone (charbon actif et du graphite) entraînent une perte drastique d'analytes (données non présentées), ils ont été écartés pour l'évaluation et l'optimisation de la purification. La figure 3-4 représente le profil de désirabilité avec trois facteurs pour la purification par micro-dispersion. Chaque facteur a été évalué à trois niveaux et les résultats sont résumés dans le tableau 7-14 de l'annexe A et la figure 3-4. Ce paramètre joue un rôle majeur dans la récupération observée. En utilisant de l'alumine ou de l'EDTA, toutes conditions confondues, l'AOR passe de 93.8% à moins de 43% (Tableau 7-14 de l'annexe A). La dSPE combinant C_{18} et $MgSO_4$ et l'alumine a atteint un AOR faible (<40%, tableau 7-14 de l'annexe A), tandis que l'AOR a atteint jusqu'à 93.8% pour C_{18}/Na_2SO_4 désirabilité $D = 0.99$, la dSPE contenant C_{18}/Na_2SO_4 (Figure 3-4) a donné le paramètre le plus statistiquement significatif pour presque tous les composés testés.

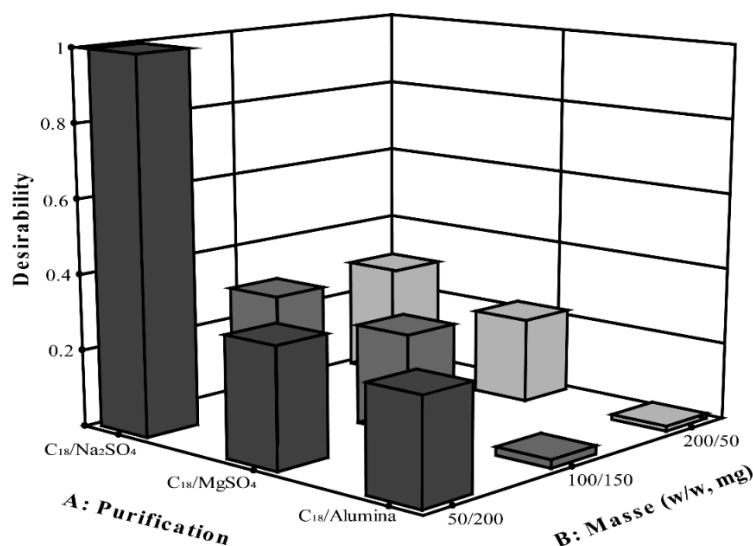


Figure 3-4: Profil de désirabilité pour la purification par micro-dispersion

La dernière étape d'optimisation consistait à évaluer l'effet de la masse de l'échantillon sur l'efficacité de l'extraction. Les biosolides sont riches en matière organique ce qui peut affecter la sorption des composés ciblés sur la matrice [144,145]. La figure 3-5 représente le profil de désirabilité pour le poids de l'échantillon évalué à trois niveaux (voir annexe A, tableau 7-10). Les résultats sont résumés dans le tableau 7-15 de l'annexe A et la figure 3-5. Les données ont

montré que l'augmentation du poids de l'échantillon diminuait la fonction de désirabilité de façon drastique. Seule l'utilisation de 0.25 g de biosolide a atteint désirabilité de l'ordre de 0.99.

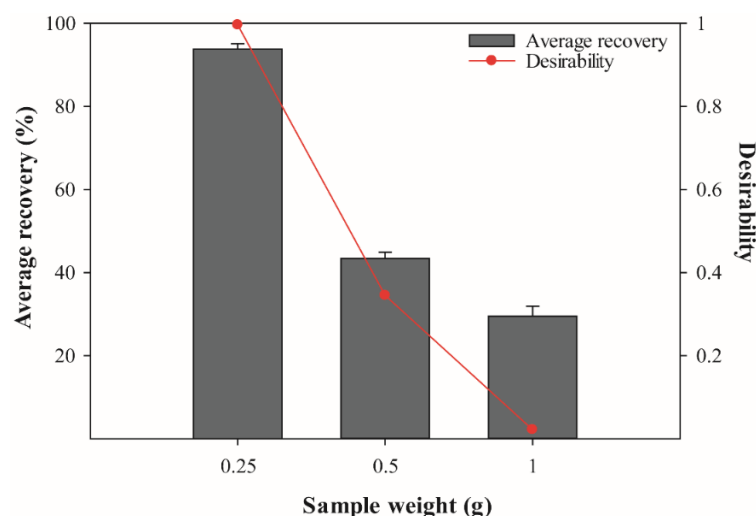


Figure 3-5: Profil de désirabilité pour la masse de l'échantillon

Sur la base de la fonction de désirabilité, les conditions finales sélectionnées pour la validation de la méthode étaient: EtOAc/H₂O/1% FA (4:1, v/v, mL) avec NaCl/Na₂SO₄/AcOAm pour le relargage, C₁₈/ Na₂SO₄ pour la purification et 250 mg pour la masse de l'échantillon.

3.3.2 Exactitude, précision et spécificité

La répétabilité et la précision de la méthode ont été évaluées sur cinq matrices: Biosolides municipaux de la station d'épuration de Magog (Tableau 3-2), sédiments et organismes benthiques (*Chironomidae*, *Oligochetae*) des lacs Massawipi et Montjoie (Tableau 7-16 de l'annexe A) à trois niveaux de concentration (5, 50, 100 ng/g).

La récupération moyenne des biosolides municipaux a donné un résultat acceptable pour la concentration la plus faible 5 ng/g (6/60 composés étaient inférieurs à 40%, 15/60 variaient de 40 à 70% et 39/60 dépassaient 70%). Pour 25 et 50 ng/g, les taux de récupération étaient supérieurs à 60% pour tous les composés, à l'exception de l'ibuprofène et de l'aldicarbe-sulfone (Tableau 3-2). Ces résultats pourraient s'expliquer par la teneur en matière organique des boues pouvant conduire à l'adsorption du composé présent à faible concentration [144,145]. La méthode a atteint une bonne précision à tous les niveaux testés (Tableau 3-2). Pour les sédiments, le profil de récupération obtenu pour les deux emplacements (lacs Massawipi et

Montjoie) était similaire et variait de 52.8% à 130% (Tableau 7-16 de l'annexe A) pour la plupart des composés ciblés, à quelques exceptions près (par exemple le fludioxonil). Pour les organismes benthiques (*Chironomidae*, *Oligochetae*), les récupérations variaient de 51% à 148% (Tableau 7-15) sauf pour 10 composés (carbamazépine, chlorfenviphos, chlorpyrifos, coumaphos, fludioxonil, indométacine, kresoxym méthyl, pendiméthaline, trifloxistrobine et acide méfenamique) pour lesquels les recouvrements étaient inférieurs à 50%. La précision calculée était <18% pour tous les composés et pour toutes les matrices testées (Tableau 3-2 et tableau 7-16 de l'annexe A).

Table 3-2: Performance de la méthode pour les biosolides municipaux. LOD and LOQ (n=5).

TrOCs	Exactitude (%)			Précision (%)			Limites	
	5ng/g	25ng/g	100ng/g	5ng/g	25ng/g	100ng/g	LOD ng/g	LOQ ng/g
1-naphthol	80.0	79.2	90.8	9.43	2.12	1.56	0.29	0.94
Acetaminiphen	103	104	96.0	4.66	0.21	2.26	0.64	1.21
Acetamiprid	70.0	79.2	102	4.14	6.78	3.04	0.25	0.96
Aldicarb-sulfone	33.3	37.5	93.2	9.43	1.35	6.01	0.46	0.95
Atrazine	90.7	72.5	101	8.86	0.49	2.83	0.64	1.78
Azinphos-Methyl	36.7	95.0	110	2.71	2.83	0.71	0.94	3.14
Bendiocarb	66.7	87.5	82.6	9.43	1.20	1.84	1.00	1.33
Bentazone	30.0	45.8	89.0	4.14	0.92	3.18	0.85	1.10
Bezaflubate	56.7	65.8	93.4	4.71	0.07	2.62	0.41	0.92
Boscalid	43.3	55.8	106	4.71	0.49	3.46	0.58	1.95
Caféine	101	102	74.6	1.13	2.19	1.91	0.25	0.82
Carbamazépine	66.7	104	82.8	3.57	0.78	2.40	1.02	2.07
Carbaryl	76.7	92.5	86.6	4.71	0.64	3.54	0.25	0.82
Carbendazim	103	105	83.0	3.00	1.98	0.99	0.90	3.01
Carbofuran	76.7	74.2	99.4	4.71	0.49	3.25	0.97	1.38
Chlofenviphos	67.2	66.7	99.6	4.39	0.57	2.26	0.24	0.81
Chlorotoluron	53.3	65.8	69.6	1.86	0.21	4.17	0.17	0.57
Chlorpyrifos	52.7	80.8	78.8	1.47	0.07	6.22	0.16	0.52
Chlortianidine	56.8	66.7	105	2.87	1.98	2.69	0.22	0.72
Coumaphos	70.5	75.6	97.4	3.57	5.32	2.55	0.13	0.42
Cyanazine	73.3	111	94.6	5.62	0.92	1.20	0.41	0.92
Cyclophosphamide	40.0	65.8	106	9.43	0.49	1.13	0.18	0.61
Diazinon	40.0	67.5	96.2	9.43	0.07	1.56	0.14	0.47
Diméthoate	96.7	132	97.4	4.71	0.85	2.55	0.34	0.73
Dinotéfurane	100	80.0	100	1.62	2.83	4.38	0.15	0.78
Diuron	80.0	79.2	50.8	1.86	2.07	3.39	0.24	0.87
Fenofibrate	93.3	106	85.0	9.43	0.78	1.20	0.13	0.43
Fludioxonil	26.7	40.0	66.2	6.86	1.84	1.77	0.25	0.82
Hexazinon	83.3	85.8	80.8	4.71	0.35	4.31	0.91	1.30
Ibuprofène	30.0	36.7	42.4	5.70	1.06	2.40	0.49	1.64
Imazéthapyr	86.7	68.3	103	3.22	2.14	1.13	0.16	0.54
Imidaclopride	96.7	107	105	14.1	1.41	5.73	1.04	2.12
Indométacine	46.7	66.7	94.8	8.86	0.14	2.40	0.12	0.84
Isoproturon	82.7	72.5	97.2	9.43	0.35	2.62	0.37	1.23
Kétoprofène	107	68.3	96.4	1.74	5.32	0.14	0.63	0.88
Kresoxim Methyl	46.7	48.3	96.2	3.49	1.56	0.99	0.45	1.50
Linuron	60.0	45.8	101	8.28	0.35	0.07	0.72	0.91
Malathion	96.7	94.2	96.2	4.14	1.20	2.62	0.35	1.16
Méfenamic Acid	90.0	92.5	91.2	3.57	0.21	1.63	0.41	0.99
Méthylbenzuron	78.0	89.2	105	9.43	0.78	3.68	1.79	2.66
Métobromuron	103	81.7	94.0	1.28	0.42	5.37	0.40	0.72
Métolachlor	63.3	75.8	89.4	14.1	0.49	0.99	0.82	1.25
Métoxuron	50.0	65.8	91.4	4.71	5.48	1.77	0.25	0.84
Monolinuron	82.7	89.2	96.8	4.14	1.87	1.77	0.55	0.97
Naproxène	86.7	110	93.6	3.14	2.47	1.91	1.41	4.72
Nitenpyram	96.7	85.0	106	7.71	8.10	0.57	0.95	3.17
Ométhoate	103	71.7	94.2	4.71	0.42	3.54	0.37	0.74
Pendiméthaline	40.0	67.5	103	8.28	0.64	1.41	0.59	1.95
Peperonil Butoxide	33.3	83.0	104	1.86	0.14	0.42	0.58	0.93
Pyraclostrobin	66.7	67.4	102	4.71	4.95	1.63	0.65	2.18
Pyriméthanol	86.7	92.5	101	9.43	0.78	0.28	0.94	3.12
Sebutylazine	66.7	61.7	97.4	1.14	2.35	1.98	0.45	0.88
Simazine	100	95.8	91.6	9.43	1.35	2.78	0.13	2.80
Spinosad A	90.0	112	108	4.71	0.78	0.64	0.23	0.76

Terbuthylazine	65.3	65.8	89.2	9.43	7.07	2.19	0.14	0.46
Thiabendazole	73.3	85.0	107	6.14	4.32	0.28	0.64	2.15
Thiachlopride	36.7	61.7	96.2	6.24	2.64	0.71	0.95	1.03
Thiametoxam	53.3	65.8	104	1.13	0.21	3.39	0.32	0.66
Trifloxistrobine	43.3	59.2	115	1.49	3.49	8.27	0.59	0.92
Trimethoprim	63.3	122	99.0	1.56	0.14	5.59	1.15	1.59

3.3.3 Application de la méthode à des échantillons environnementaux réels

Les résultats de l'analyse des échantillons prélevés dans la STEP de Magog (biosolides municipaux) et les lacs Massawipi et Montjoie (sédiments et organismes benthiques) sont résumés au tableau 3-3. Parmi les 60 composés ciblés, 6 composés (1 pesticide et 5 produits pharmaceutiques) ont été détectés et quantifiés dans les biosolides (ie, carbendazime 9.60 ng/g, caféine 30.4 ng/g, carbamazépine 19.2 ng/g, fénofibrate 15.2 ng/g ibuprofène 19.2 ng/g, naproxène 12 ng/g). Pour les sédiments, 4 produits pharmaceutiques (acétaminophène 4.26 ng/g, ibuprofène 37 ng/g, kétoprofène 7.8 ng/g et naproxène 5 ng/g) et 2 pesticides (atrazine 3 ng/g et métolachlore 3.80 ng/g) ont été quantifiés dans les sédiments du lac Massawipi. Pour le lac de Montjoie, seulement 2 produits pharmaceutiques ont été quantifiés (acétaminophène 5.26 ng/g et naproxène 2.93 ng/g). Pour les organismes benthiques, seule la caféine a été quantifiée (Tableau 3-3). Dans l'ensemble, ces résultats suggèrent que la présence de composés pharmaceutiques est majoritaire notamment les anti-inflammatoires non stéroïdiens.

Table 3-3: Information quantitative pour les TrOCs ciblés dans les échantillons réels de biosolides, sédiments, et organismes benthiques

TrOCs	Magog boues ng/g	SD	Massawipi sédiment ng/g	SD	Montjoie sédiment ng/g	SD	<i>Chironomidae</i> ng/g	SD	<i>Oligochetae</i> ng/g	SD
1-naphthol	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
Acetaminiphen	nd	-	4.26	1.28	5.86	3.00	nd	-	nd	-
Acetamiprid	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
Aldicarb-sulfone	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
Atrazine	nd	-	3.00	0.23	nd	-	nd	-	nd	-
Azinphos-Methyl	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
Bendiocarb	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
Bentazone	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
Bezafibrate	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
Boscalid	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
Caffeine	30.4	2.56	nd	-	nd	-	25.4	9.89	126	7.07
Carbamazepine	19.2	9.32	nd	-	nd	-	<LOD	-	nd	-
Carbaryl	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
Carbendazim	9.60	2.97	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
Carbofuran	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
Chlofenvinphos	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
Chlorotoluron	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
Chlorpyrifos	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
Chlotianidine	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
Coumaphos	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
Cyanazine	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
Cyclophosphamide	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
Diazinon	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
Dimethoate	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
Dinotefuran	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
Diuron	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
Fenofibrate	15.2	3.40	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
Fludioxonil	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-

Hexazinon	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
Ibuprofen	19.2	10.2	37.0	4.80	nd	-	nd	-	nd	-
Imazethapyr	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
Imidaclopride	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
Indometacine	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
Isoproturon	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
Ketoprofen	nd	-	7.80	0.27	nd	-	nd	-	nd	-
Kresoxim Methyl	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
Linuron	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
Malathion	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
Mefenamic Acid	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
Methylbenzuron	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
Metobromuron	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
Metolachlor	nd	-	3.80	0.28	nd	-	nd	-	nd	-
Metoxuron	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
Monolinuron	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
Naproxen	12.0	2.28	5.00	7.07	2.93	2.41	nd	-	nd	-
Nitenpyram	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
Omethoate	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
Pendimethalin	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
Peperonil Butoxide	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
Pyraclostrobine	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
Pyrimethanil	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
Sebuthylazine	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
Simazine	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
Spinosad A	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
Terbutylazine	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
Thiabendazole	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
Thiachlopride	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
Thiametoxam	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
Trifloxistrobine	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-
Trimethoprim	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-	nd	-

3.4 Conclusion

La présente étude a décrit un développement analytique et la validation d'une méthode pour l'extraction simultanée de 60 composés (produits pharmaceutiques et pesticides) applicables à diverses matrices solides complexes. L'étude montre également que l'utilisation d'une conception expérimentale et la fonction de désirabilité sont des outils précieux pour guider la sélection simultanée des paramètres optimaux au cours du développement de la méthode. L'applicabilité de la méthode à différentes matrices a été démontrée par l'analyse des biosolides municipaux, des sédiments et des organismes benthiques. Les résultats obtenus ont montré une prédominance de la caféine dans la plupart des échantillons analysés à une concentration allant jusqu'à 126 ng/g. Cette étude a établi une méthode simple et efficace qui peut être utilisée pour plusieurs matrices environnementales.

4 CHAPITRE IV : PRÉSENCE DES CONTAMINANTS À L'ÉTAT DE TRACE DANS LES STATIONS D'ÉPURATIONS

4.1 Introduction

Le développement de la société implique l'utilisation de plusieurs composés synthétiques à la fois dans diverses industries telles que l'industrie alimentaire, la production agricole, la santé humaine et animale [1]. Au cours des dernières décennies, un intérêt croissant pour la persistance dans l'environnement de composés organiques à l'état de traces a été observé dans le monde entier [11,146–148]. Ces contaminants regroupent notamment des composés pharmaceutiques et des pesticides (TrOCs) et se trouvent principalement dans l'environnement à des concentrations traces allant de ng/L au µg/L [11,26,149]. La présence de TrOCs est soulevée dans divers milieux environnementaux [146,150–152] y compris les eaux de surface, l'eau potable, les sédiments, les sols, les effluents, les biosolides et les bassins versants. Diverses sources sont soupçonnées de jouer un rôle majeur de la contamination par les TrOCs tels que le ruissellement des eaux pluviales urbaines, le ruissellement agricole et les rejets des stations d'épuration des eaux usées (STEP).

Les STEP ont été identifiées comme l'une des principales sources de TrOCs dans l'environnement [6] par l'utilisation d'effluents pour l'irrigation et les biosolides comme matières résiduelles fertilisantes [14,153]. En effet, les STEP actuelles ne sont pas conçues pour éliminer ces types de composés, les systèmes conventionnels utilisent encore largement des boues activées pour le traitement [28,123,154–156]. De nombreuses études ont signalé la présence de composés pharmaceutiques dans les affluents, les effluents et les biosolides de ces ouvrages [11,51,148,149,157].

À ce jour, les rejets des STEP (effluents et biosolides) dans l'environnement n'est pas régi par une norme spécifique concernant la présence des TrOCs. La plupart des directives sur les rejets se concentrent sur la présence de métaux, d'agents pathogènes et de nutriments [2].

Les objectifs de la présente étude sont de déterminer la présence de 70 TrOCs, comprenant 16 composés pharmaceutiques et 54 pesticides) dans les STEPs de Granby (QC) et Magog (QC) afin de: (1) identifier les contaminants type et sources potentielles de pollution, (2) vérifier l'efficacité du fonctionnement du traitement conventionnel et (3) effectuer une évaluation des risques environnementaux. L'étude a été réalisée pendant 20 jours, avec un échantillonnage quotidien des affluents, des effluents et des biosolides. La préparation et l'analyse des échantillons ont été effectuées en utilisant la chromatographie liquide couplée au spectromètre de masse (LC-MS / MS) selon les méthodologies multi-résiduelles précédemment développées pour l'analyse des produits pharmaceutiques et des pesticides dans les échantillons liquides et solides.

4.2 Matériels et méthodes

4.2.1 Produits chimiques et réactifs

Tous les produits chimiques utilisés dans ce travail étaient de qualité analytique. Le méthanol (MeOH), l'acétonitrile (MeCN), l'acétate d'éthyle (AcOet) et l'acide formique (FA) (qualité Optima® pour LC / MS) ont été achetés auprès de Fisher Scientific (Ottawa, ON, Canada). Tous les réactifs, produits pharmaceutiques et étalons de pesticides, fournis sous forme solide (pureté > 95%), ont été achetés auprès de Sigma Aldrich (Saint-Louis, MO, USA). Les détails sur les molécules sélectionnées sont présentés en Annexe B.

4.2.2 Échantillonnage

Les échantillons composite 24h ont été prélevés pendant 20 jours dans deux stations d'épuration durant le mois de Mai 2016.

La STEP de Granby (QC) a une capacité de traitement totale de 38 400 équivalents habitants. Les effluents sont rejetés dans la petite rivière Yamaska North. La STEP de Magog (QC) a une capacité de traitement totale de 30 000 équivalents habitants. Des effluents sont rejetés dans la rivière Magog (Annexe B).

4.2.2.1 Les échantillons aqueux: affluent et effluent

Les échantillons aqueux sont collectés dans des bouteilles en verre ambrés. Les échantillons ont été filtrés avec des filtres en microfibre de verre de 47 mm de diamètre pour éliminer les matières en suspension et stockés à 4 ° C avant extraction.

4.2.2.2 Les échantillons solides: biosolides municipaux

Les échantillons de biosolides ont été collectés directement dans une bouteille en verre ambré. Les échantillons ont été lyophilisés en utilisant le lyophilisateur sentinelle Vir Tis Sp Scientific 2.0 pendant 48h et tamisés pour avoir une granulométrie finale de 1 mm. Les échantillons ont été conservés à -20 ° C avant extraction.

4.2.3 Préparation des échantillons

4.2.3.1 Préparation des affluents et effluents

100 ml d'affluent et d'effluent ont été passés à travers la cartouche d'extraction en phase solide Oasis HLB 3cc/60 mg (Waters Corporation, Milford, MA). L'extrait a été recueilli avec 1 ml de MeOH et évaporé à sec sous un léger flux d'azote à 35 ° C (bain de sable thermostaté). Les extraits sont ensuite dissous dans 0.1 ml d'un mélange eau-méthanol, 0.2% acide formique (1:1; v/v). Enfin, les solutions ont été filtrées à l'aide d'une seringue filtrante en PTFE de 0,2 µm et analysées par spectrométrie de masse (LC-MS / MS).

4.2.3.2 Préparation des biosolides municipaux

0,25 g de boues ont été transférées dans un tube Falcon de 50 ml. 1 ml d'eau acide (acide formique à 1% (v / v)) a été ajouté et les échantillons ont été vortexés pendant 60 secondes. 4 ml d'acétate d'éthyle (acide formique à 1%) a été ajoutés et la solution est mélangée jusqu'à formation d'une émulsion (~ 60 s). Après cela, 0.4 g de sulfate de sodium anhydride, 0,1 g de chlorure de sodium et 0,4 g d'acétate d'ammonium ont été ajoutés à la solution et immédiatement vortexés (60 secondes) pour éviter l'agglomération du sel. Les échantillons sont ensuite centrifugés à 4300 RPM pendant 20 min à 4 ° C. La couche organique (couche supérieure) a été collectée et évaporée à sec sous un léger flux d'azote à 35 ° C (bain de sable thermostaté). Les extraits ont ensuite été dissous dans 1 ml d'acétonitrile à 100% (acide formique à 1% (v/v)) puis vortexés et soniqués pendant 30 secondes. Le mélange a été transféré dans un tube Eppendorf

de 1,5 ml contenant la phase de purification (50 mg C₁₈ / 200 mg Na₂SO₄) et vortexé pendant 60 secondes. Après centrifugation pendant 10 min à 4500 RPM, les échantillons ont été évaporés à sec, puis reconstitués dans 1 ml d'un mélange eau-méthanol, 0.2% acide formique (1:1; v/v). Enfin, les solutions ont été filtrées à l'aide d'une seringue filtrante en PTFE de 0,2 µm et analysées par spectrométrie de masse (LC-MS / MS).

4.2.4 Analyse des échantillons

Les TrOCs ont été analysés suivant la méthode de Haroune et al, 2015 [27]. Les analyses ont été effectuées en utilisant une source d'ionisation par électro spray positive (ESI +) en mode de surveillance multi-réaction (MRM) sur Acquity UPLC XEVO TQ mass spectrometer (Waters Corporation, Milford, MA) équipé d'une colonne Acquity UPLC HSS-T3 (100mm × 2.1 mm, 1.8 lm) (Annexe B).

4.2.5 Évaluation du risque écotoxicologique

Le risque environnemental potentiel des composés ciblés a été évalué conformément au document d'orientation technique sur l'évaluation des risques de l'Union européenne (ECB, 2003) [158]. L'évaluation des risques pour l'effluent a été calculée en termes de quotient de risque (RQ) en appliquant la formule suivante:

$$RQ = MEC_{\text{effluent}} / PNEC_{\text{water}}$$

Où MEC_{effluent} est la concentration environnementale mesurée (maximum dans l'effluent) en µg / L et PNEC_{water} est la concentration sans effet pour les organismes aquatiques en µg / L.

L'évaluation des risques pour l'effluent a été calculée en termes de quotient de risque (RQ) en appliquant la formule suivante:

$$RQ = MEC_{\text{biosolids}} / PNEC_{\text{soil}}$$

Où MEC_{biosolids} est la concentration environnementale mesurée (maximum dans les biosolides) en µg/g et PNEC_{soil} est la concentration sans effet pour les organismes du sol en µg/g.

PNEC_{water} and PNEC_{biosolids} les valeurs ont été estimées à partir des données de toxicité aiguë les plus faibles rapportées dans la littérature (EC50). Les calculs du PNEC sont présentés en Annexe B. Différents niveaux de risque ont ensuite été établis suivant les recommandations de Verrilichi et al, (2012) et Hernando et al. (2006) [11,149]:

- Risque insignifiant ($RQ < 0,01$),
- Risque faible ($0,01 > RQ > 0,1$) et
- Risque modéré ($0,1 > RQ > 1$).

4.3 Résultats et discussion

4.3.1 La présence des TrOCs dans les STEP

4.3.1.1 Vue d'ensemble

Les concentrations moyennes des TrOCs détectés dans les effluents, les effluents et les biosolides sont présentées dans les tableaux 4.1 et 4.2 pour les deux STEP à l'étude.

Parmi les 70 composés analysés, 10 composés sont systématiquement retrouvés dans l'affluent, l'effluent et le biosolide de la STEP de Granby. Ces substances sont principalement 7/10 des produits pharmaceutiques et 3/10 des herbicides (Table 4.1). On a observé que les anti-inflammatoires non-stéroïdiens (AINS) étaient prédominants (acétaminophène, ibuprofène, naproxène). La caféine et l'acétaminophène sont les deux composés retrouvés à forte concentration avec en moyenne 10 µg/L et 1 µg/L respectivement. Les principaux pesticides détectés sont l'atrazine et le métolachlore avec en moyenne $\approx 0,1$ µg/L. De plus, l'analyse des biosolides a montré la présence de tous les composés détectés avec des concentrations moyennes allant de 2 à 200 ng/g.

Table 4-1: Valeurs moyennes des composés quantifiés dans la STEP de Granby

Composés	Affluent µg/L	SD	Effluent µg/L	SD	Biosolides ng/g	SD
Acetaminophene	1,08	0,39	0,02	0,08	127	113
Atenolol	0,07	0,05	0,03	0,01	3,03	2,21
Atrazine	0,02	0,03	0,04	0,02	5,80	2,33
Caffeine	10,2	4,36	0,13	0,42	203	143
Carbamazepine	0,03	0,01	0,08	0,02	11,4	3,26
Ibuprofene	0,54	0,58	0,09	0,07	37,5	15,1
Imidacloprid	0,00	0,07	0,01	0,01	2,25	0,94
Metolochlor	0,01	0,01	0,03	0,01	4,86	1,91
Naproxen	0,46	0,12	0,06	0,04	20,7	18,4
Trimethoprim	0,01	0,01	0,01	0,07	5,23	1,98

En ce qui concerne la station d'épuration de Magog, 7 composés sont systématiquement retrouvés. Ces substances sont principalement 5/7 des produits pharmaceutiques et 2/7 des pesticides (Table 4.2). L'acétaminophène et la caféine sont les deux composés majoritaires avec des concentrations moyennes élevées de l'ordre de 150 µg/L et 280 µg/L respectivement (Table 4.2). Les principaux pesticides détectés sont le fongicide carbendazime avec en moyenne 18 µg/L et l'herbicide diuron avec en moyenne 0,5 µg/L. De plus, l'analyse des biosolides a montré une présence de tous les composés détectés avec une concentration moyennes allant de 12 à 200 ng/g.

Table 4-2: Valeurs moyennes des composés quantifiés dans la STEP de Magog.

Composés	Affluent µg/L	SD	Effluent µg/L	SD	Biosolides ng/g	SD
Acétaminophène	146	3,09	0,13	0,16	14,6	2,78
Caféine	276	24,3	0,31	0,37	38,6	4,47
Carbamazépine	1,25	0,17	2,21	0,27	16,1	3,35
Carbendazime	18,0	1,90	4,02	1,06	209	15,1
Diuron	0,59	0,12	0,22	0,04	21,3	4,52
Naproxen	62,1	9,28	2,97	0,34	13,2	5,15
Triméthoprim	0,28	0,03	0,41	0,06	12,9	3,25

Pour les stations d'épuration de Granby et de Magog, les résultats ont montré que les composés pharmaceutiques sont prédominants. De plus, les résultats ont montré que tous les composés détectés sont systématiquement retrouvés dans les biosolides municipaux. En effet, selon les propriétés physico-chimiques (LogKow, LogKoc), certains composés vont de manière préférentielle se loger dans la phase organique contenue dans les biosolides.

4.3.1.2 Vue rapprochée

De manière rapprochée les résultats obtenus pour les deux stations d'épuration montrent une nette prédominance de l'acétaminophène et la caféine. Les concentrations retrouvées durant une semaine d'échantillonnage ont montrés des variations de niveaux au cours du temps (Figure 4.1, 4.2).

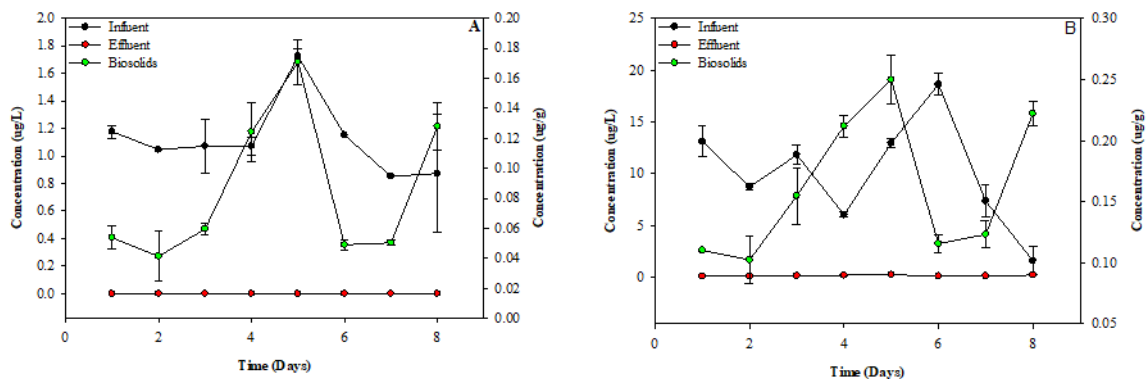


Figure 4-1: Efficacité de la station d'épuration de Granby avec A pour l'acétaminophène et B pour la caféine.

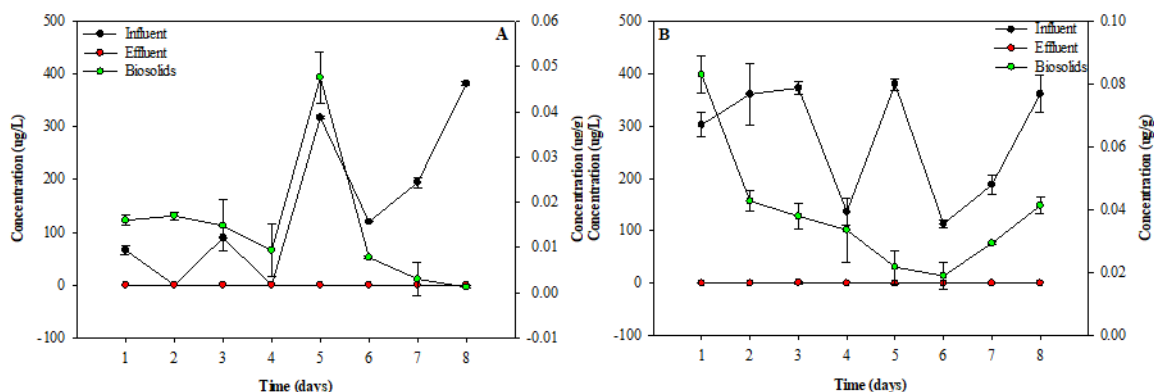


Figure 4-2: Efficacité de la station d'épuration de Magog avec A pour l'acétaminophène et B pour la caféine.

On observe que les deux STEPs montrent une forte capacité à éliminer les deux molécules (acétaminophène et caféine) (Figure 4.1, 4.2) de l'effluent finale. Cependant, on constate que malgré la disparition des composés de l'effluent aqueux finale, les composés s'accumulent dans les biosolides municipaux. Ce phénomène laisse croire que la disparition d'une molécule n'implique pas forcément son élimination.

Dans l'ensemble, les résultats obtenues (vue d'ensemble et vue rapprochée) sont en accord avec la littérature. En effet, les anti-inflammatoires sont présentés comme les composés prédominants trouvés dans l'environnement et dans les STEPs [153,159,160]. La STEP de Magog présente les concentrations les plus élevées pour les composés pharmaceutiques. Les résultats observés

peuvent être liés à de nombreux facteurs tels que le taux de consommation, la quantité de précipitations et la population (par exemple le tourisme pendant l'été et l'hiver) qui entraînent une variation des niveaux de TrOCs dans les STEPs.

4.3.2 Efficacité de la STEP

Les deux STEPs étudiées ont montré un fonctionnement relativement similaire, plus de la moitié des composés détectés ont été efficacement éliminés ($\approx 90\%$) de l'effluent. Les composés les plus abondants mesurés dont l'acétaminophène, l'ibuprofène, le naproxène et la caféine de la station d'épuration des eaux usées de Granby ont montré les rendements d'élimination les plus élevés avec 97%, 82%, 85% et 98% respectivement, donc une élimination moyenne totale observée de 90% (Table 4.3). Dans la même approche, la station d'épuration de Magog a montré une efficacité similaire avec une élimination moyenne totale de 92% pour les composés les plus abondants mesurés dans l'affluent (acétaminophène, caféine, naproxène et carbendazime) (Table 4.3).

Table 4-3: Pourcentage d'élimination des TrOCs ciblés dans les STEPs.

Composés	STEP Granby		STEP Magog	
	% élimination	SD	% élimination	SD
Acétaminophène	97,8	0,48	99,9	3,25
Aténolol	54,9	0,07	nd	nd
Atrazine	0,00	0,06	nd	nd
Caféine	98,6	4,78	99,8	24,7
Carbamazépine	0,00	0,03	0,00	0,44
Ibuprofène	82,1	0,66	nd	nd
Imidaclopride	0,00	0,01	nd	nd
Métachlore	0,00	0,02	nd	nd
Naproxen	85,3	0,17	95,2	9,62
Triméthoprim	39,3	0,01	0,00	0,10
Carbendazime	nd	nd	77,7	2,97
Diuron	nd	nd	61,3	0,17

L'efficacité des deux STEPs à éliminer les anti-inflammatoires est en concordance avec la littérature où des taux d'élimination de 100, 97, 94 et 99% ont été rapportés pour l'acétaminophène, l'ibuprofène, le naproxène et la caféine, respectivement [153].

Dans le cas de la carbamazépine (CBZ) détectée et quantifiée dans les deux STEPs considérées, aucune élimination n'a été observée (voir Table 4.3). Ce manque d'efficacité observé concorde avec des études précédentes [150,153,161] où la CBZ est connu pour être très récalcitrante.

Dans la présente étude les concentrations de CBZ obtenues sont plus élevées en sortie de STEP dans l'effluent par rapport à l'affluent (Figure 4.4).

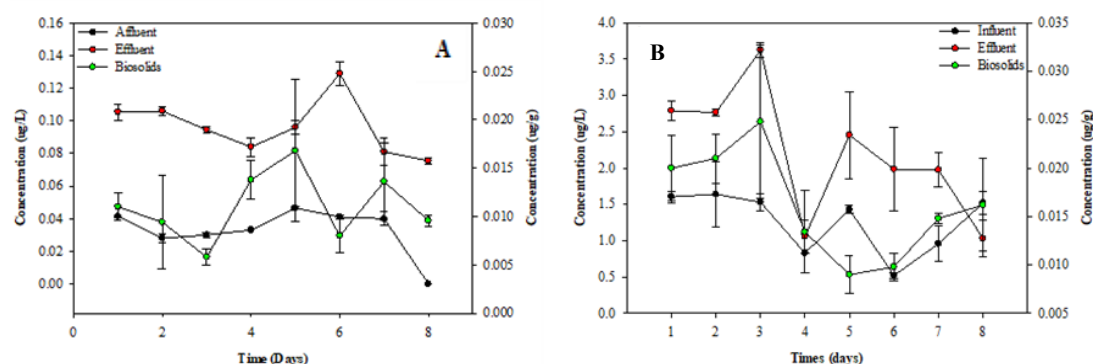


Figure 4-3: Concentration de la carbamazépine, (A) STEP Grany, (B) STEP Magog

Les résultats obtenus peuvent s'expliquer par :

- La formation (biologique) des molécules mères à partir du métabolites de phase II (EP-CBZ, DiOH-CBZ) [162],
- La conception des stations d'épuration pouvant conduire à des phénomènes de désorption lors de la recirculation des boues activées [153,163].

Par conséquent, l'efficacité du processus de traitement peut être très dépendante du type de molécules.

4.3.3 Évaluation des risques environnementaux des TrOCs détectés

Les valeurs de RQ (Table 4.4) dans les effluents et les biosolides ont été calculées en utilisant les concentrations moyennes mesurées en tant que valeurs MEC (Table 4.1 et 4.2). Dans le tableau 6.4 dans annexe B, les valeurs $PNEC_{water}$ ont été rapportées et calculées à partir des données de toxicité (Table 6.3 dans Annexe B) correspondent aux espèces les plus sensibles et les plus couramment utilisées dans les tests de toxicité standardisés. Les $PNEC_{biosolids}$ ont été estimés à partir des valeurs de $PNEC_{water}$ et les valeurs K_d rapportées dans la littérature (Table 6-3, Annexe B).

Table 4-4: Valeurs des quotients de risque (RQ) dans les effluents et les biosolides.

Composés	RQ Effluent		RQ Biosolides	
	Granby (QC)	Magog (QC)	Granby (QC)	Magog (QC)
Acétaminophène	5,5E-04	3,1E-03	1,1E+00	1,3E-01
Aténolol	1,0E-03	N/A	1,2E-02	N/A
Atrazine	4,2E-02	N/A	N/A	N/A
Caféine	2,9E-03	6,7E-03	2,2E-02	4,2E-03
Carbamazépine	7,8E-04	1,9E-02	7,3E-03	1,0E-02
Ibuprofène	2,5E-03	N/A	7,8E-03	N/A
Imidaclopride	3,8E-01	N/A	N/A	N/A
Métachlore	7,5E-03	N/A	1,7E+00	N/A
Naproxen	4,5E-03	1,9E-01	3,9E-02	2,4E-02
Triméthoprim	9,6E-05	3,4E-03	6,3E-04	1,5E-03
Carbendazime	N/A	4,6E+01	N/A	N/A
Diuron	N/A	2,0E-01	N/A	1,5E+00

Les critères de classement des risques sont tirés de la littérature, où $RQ < 0.1$ ne suggère aucun risque, $0,1 \leq RQ \leq 1,0$ suggère un risque faible et $RQ > 1,0$ suggère un risque modéré [11,149]. Les résultats obtenues (Table 4.4) montrent que malgré la persistance de certains composés (caféine, naproxène, carbamazépine), ces derniers ne représentent pas forcément un risque pour l'environnement récepteur (eaux et sols). En effet la plupart des composés présentent des $RQ < 0.1$ essentiellement dans les effluents. Cependant, dans le cadre de l'acétaminophène, nous constatons que malgré son élimination des effluents sa persistance et son accumulation dans les biosolides municipaux présente un risque modéré avec un RQ de 1,16 et 0,13 pour Granby et Magog respectivement. Très peu d'étude applique le RQ aux biosolides municipaux, cependant l'étude réalisée par Martin et al, 2012 [159] a estimé le RQ de 16 composés pharmaceutiques dans les boues d'épuration. Plus précisément l'étude a indiqué que les RQ se situaient entre 0.04 et 252 dans les boues digérées et entre 0.002 et 34.8 dans le compost [159]. De manière générale on constate que le RQ représente un outil intéressant pour l'évaluation du risque environnementale des TrOCs persistant, ce pendant il est difficile de se comparer à la littérature étant donné la variabilité continue des matrices et des composés.

4.4 Conclusion

Dans la présente étude, un total de 70 TrOCs a été étudié pour leur présence dans deux STEPs du Québec à trois points d'échantillonnage (affluent, effluent et biosolides). Les résultats ont révélé que les AINS étaient les TrOCs prédominants détectés systématiquement dans les deux

STEPS. De plus, les résultats ont montré que la disparition de certains composés de l'effluent finale n'implique pas systématiquement son élimination. En effet, plusieurs molécules (ex. acétaminophène, caféine) ont tendance à s'accumuler dans les biosolides municipaux. Concernant l'évaluation des risques de la persistance des TrOCs, il a été montré que dans le cadre de cette étude le risque le plus élevé est lié à l'accumulation des composés dans les biosolides municipaux. Finalement, cette étude a révélé la grande importance de surveiller en permanence la présence des contaminants organiques tels que les composés pharmaceutiques et les pesticides afin de mieux comprendre le comportement de ces derniers dans les biosolides municipaux et d'évaluer le risque potentiel associé à l'utilisation des biosolides comme amendement sur les terres agricoles et sylvicoles.

4.5 Remerciements

Les auteurs souhaitent remercier le personnel des deux STEPs pour leur collaboration.

5 CHAPITRE V : UTILISATION DES CHAMPIGNONS DE LA POURRITURE BLANCHE *TRAMETES HIRSUTA* ET *PLEUROTUS DRYINUS* POUR RÉDUIRE LE VOLUME DES BIOSOLIDES MUNICIPAUX ET LA TENEUR EN RÉSIDUS PHARMACEUTIQUES

5.1 Avant-propos

Ce chapitre a été soumis pour publication dans « Journal of Environmental Management » sous les références :

Numéro de soumission: **JEMA-D-20-01132**

Date de soumission: **2020-02-18**

« The use of white rot fungi *Trametes hirsuta* and *Pleurotus dryinus* to reduce municipal biosolids volume and pharmaceutical compounds content»

5.1.1 Auteurs et affiliation

Sabrina Saibi^[1], Lounès Haroune^[2], Olivier Savary^[1], Jean-Philippe Bellenger^[2], Hubert Cabana^[1] *

^[1] Department of Civil Engineering, Université de Sherbrooke, Faculty of Engineering, (J1K2R1) Canada Qc

^[2] Department of Chemistry, Université de Sherbrooke, Faculty of Sciences, (J1K2R1) Canada Qc

* Address for correspondence:

Cabana Hubert, Eng. PhD

Department of Civil and Building Engineering, Université de Sherbrooke,
2500 boul. de l'Université, Sherbrooke, Québec, J1K 2R1, Canada

Tel: +1 (819) 821-8000, ext. 65457, Fax: +1 (819) 821-7974

Email: Hubert.Cabana@USherbrooke.ca

5.1.2 Présentation de l'article

Cette étude porte sur l'aptitude de deux souches fongiques, *Trametes hirsuta* et *Pleurotus dryinus*, à se développer dans un milieu contenant des biosolides municipaux comme substrat, à réduire le volume de biosolides et à éliminer les composés actifs pharmaceutiques (PhAC), 5 anti-inflammatoires non stéroïdiens (NSAI) et 2 composés psychoactifs (PAC)). Deux concentrations de biosolides (12 et 25% w / v) ont été étudiées. Les résultats ont montré que, pour les deux souches, 12% des suspensions de biosolides étaient la condition la plus efficace, entraînant une réduction de volume de 90% pour seulement 50% avec des suspensions de biosolides à 25%. Une élimination complète des NSAI contenant 12% de suspensions de biosolides a été observée avec *T. hirsuta*, mais l'élimination allait de moins de 20% (12% de biosolides) à plus de 60% (25% de biosolides) pour les PAC. Avec *P. dryinus*, le taux d'élimination variait de 100% à 50% pour les AINS et de moins de 20% pour les PAC dans les deux conditions testées. L'activité de la laccase a atteint 80 et 60 U / L pour *T. hirsuta*, mais seulement 28 et 40 U / L pour *P. dryinus*, avec des concentrations inférieures à 12% et 25% de biosolides, respectivement. Les tests de toxicité (tests de germination des semences) effectués sur les biosolides après traitement avec *T. hirsuta* dans une suspension à 12% de biosolides, conditions les plus efficaces pour la réduction du volume et l'élimination des PhAC rapportées dans cette étude, ont montré une réduction significative de la toxicité des biosolides après traitement par WRF. Les résultats ont démontré que le WRF sélectionné peut efficacement réduire à la fois le volume total de biosolides et la charge en PhAC, ce qui entraîne une diminution significative de la toxicité des biosolides.

5.1.3 Contribution des auteurs

Le plan expérimental a été conçu par Sabrina SS et LH. SS et LH ont effectué les expériences et analyses. SS et LH ont rédigés la première version de l'article. Tous les auteurs ont commenté et modifié la version suivante.

5.2 The use of white rot fungi *Trametes hirsuta* and *Pleurotus dryinus* to reduce municipal biosolids volume and pharmaceutical compounds content

5.2.1 Abstract

This study focuses on the ability of two white rot fungi (WRF) strains, *Trametes hirsuta* and *Pleurotus dryinus*, to grow in a bioslurry containing municipal biosolids as substrate, to reduce the biosolids volume, and to remove pharmaceutical active compounds (PhACs) (i.e., 5 non-steroidal anti-inflammatories (NSAIs) and 2 psychoactive compounds (PACs)). Two concentrations of biosolids (12 and 25% w/v) were studied. The results showed that, for both strains, 12% of biosolid suspensions was the most efficient condition resulting in 90% of volume reduction for only 50% with 25% biosolid suspensions. A complete removal of NSAIs with 12% biosolid suspensions was observed with *T. hirsuta* but the removal ranged from less than 20% (12% biosolids) to over 60% (25% biosolids) for PACs. With *P. dryinus* removal ranged from 100% to 50% for NSAIs and less than 20% for PACs under the two tested conditions. Laccase activity reached 80 and 60 U/L for *T. hirsuta*, but only 28 and 40 U/L for *P. dryinus*, under 12% and 25% biosolids concentration, respectively. Toxicity assays (seed germination tests) performed on biosolids after treatment with *T. hirsuta* in a 12% biosolid suspension, the most efficient conditions for both volume reduction and PhACs removal reported in this study, showed a significant reduction of biosolids toxicity after WRF treatment. The results demonstrated that the selected WRF can efficiently reduce both the total volume of biosolids and their PhACs load resulting in a significant decrease of biosolids toxicity.

Keywords: white rot fungi, municipal biosolids, volume reduction, laccase, pharmaceutical compound removal, toxicity.

5.2.2 Introduction

Large and steadily increasing quantities of biosolids are produced worldwide as a result of more stringent standards for wastewater treatment and the disposal of its sludge [164]. Environmentally friendly and economically sustainable management strategies of these large volumes of biosolids are needed for their valorization as soil amendments [3,165]. Indeed, biosolids typically contain organic matter and high concentrations of nitrogen, phosphorous, and other nutrients and its field valorization is economical and easy [74]. Therefore, the use of biosolids for soil amendments represents an opportunity to recover the essential nutrients for plant growth, restoring soils and reducing landfilling and incineration of the resource [3,166]. In addition, this approach could limit the use and the production of hazardous chemical fertilizers (e.g., nitrates) and thus reduce their environmental impact.

However, municipal biosolids contain hazardous substances such as pharmaceutical compounds (PhACs) in concentrations up to 100 µg/kg [167], and numerous pathogenic microorganisms including fecal coliforms and salmonellae [74]. The presence of PhACs can be potentially toxic to plants [81,168]. The ability of plants to uptake PhACs is also a concern as it could lead to contamination of the food chain. For instance, lettuce (*Lactuca sativa*) was reported to uptake large amount of diclofenac and ibuprofen, up to 19 µg/kg and 30 µg/kg, respectively [85]. Thus, an ideal solution for biosolids management would combine both volume reduction and elimination of the potentially toxic contaminants present in the biosolids. Both physicochemical and biological methods have been widely investigated for the reduction of the volume of biosolids and the removal of PhACs [105,109]. Physicochemical methods generally achieve high efficiency for volume reduction and PhACs removal, but are often cost inefficient due to their high energy requirement [169]. Biological methods are recognized as more eco-friendly, energy and cost-efficiency approaches [22]. White rot fungi (WRF) are well-suited for applications in environmental biotechnology [100] due to the low specificity of their diverse extracellular (e.g., laccase lignin peroxidase, manganese-dependent peroxidase) and intracellular enzymes (e.g., cytochrome p-450) [170]. They are able to transform a wide range of phenolic and non-phenolic compounds including PhACs from municipal biosolids [90,109]. Additionally, WRF secrete enzymes such as protease, lipase and cellulase, which could contribute to reducing the volume of biosolids through hydrolytic reactions [112]. Moreover, the cost of enzymatic production is directly related to the cost of the culture medium [91], thus

the use of low-cost media such as a municipal biosolid would be an affordable way to produce valuable enzymes. Several studies addressed the potential of WRF to remove organic PhACs, however, to the best of our knowledge, this is one of the first study to evaluate their potential to reduce both the volume and PhACs load of biosolids.

The objective of this study was to evaluate the ability of two selected WRF stains (*Trametes hirsuta* and *Pleurotus dryinus*) to reduce biosolids volume, PhACs load, and toxicity and to produce extracellular enzymes in a biosolid-based growth medium.

5.2.3 Materials and methods

5.2.3.1 Chemical reagents

All chemicals were of analytical and optima grades. Formic acid, methanol, and acetonitrile (Optima® grade for LC/MS) were purchased from Fisher Scientific (Ottawa, ON, Canada). Malt extract, yeast extract, D-glucose, and pharmaceutical active chemicals (acetaminophen, naproxen, ketoprofen, mefenamic acid, indomethacin, carbamazepine and caffeine) of purity > 95%, were purchased from Sigma Aldrich (Saint-Louis, MO, USA).

5.2.3.2 Municipal biosolids

Municipal biosolids used for all experiments were obtained from a local wastewater treatment plant located in the Province of Quebec, Canada. The physicochemical characteristics of biosolids are presented in appendix C.

5.2.3.3 Fungal strains

T. hirsuta (IBB 450) and *P. dryinus* (IBB 903) were obtained from the culture collection of the institute of biochemistry and biotechnology (Tbilisi, Georgia). Both WRF strains were formulated in simple pellet mycelium forms. The pelletization process was performed according to the method published by Haroune et al., (2014) [99]. All the experiments were carried out under sterile conditions (autoclaved 45 min at 121°C and 19 psi).

5.2.3.4 Culture conditions

In order to evaluate the efficiency of selected fungi strain for the treatment of biosolids, all experiments were carried-out under sterile condition in order to prevent interactions between fungi and endogenous bacteria that can affect treatment outcomes [124].

The fungi were grown on a rotary shaker at 135 rpm and 25°C in 250 ml flasks. Four concentrations of municipal biosolids were used; 12%, 25%, 50% and 100% (w/v). The

biosolids were diluted with a culture medium containing 0.4% w/v glucose, 0.4% w/v yeast and 1% w/v malt. Each flask contained 50 mL of the defined medium, 1 mL (800 mg dry weight of WRF) of blended mycelium suspension and a final concentration of PhACs of 100 ng/mL. The experiments were conducted for 35 days at 25°C. At regular time intervals, 5, 15, 20 and 35 days, one triplicate of each concentration of biosolids was sacrificed (whole flasks). PhACs were extracted from the bioslurry using a modified QuEChERS (quick, easy, cheap, effective, rugged, safe) method and quantified by LC-MS/MS (see appendix C).

5.2.3.5 Enzymatic activity

Laccase (LAC) activity was quantified according to Touahar et al, (2014) [94] by following the conversion of 0.5 mM of 2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) to its radical cation (ABTS^{•+}) at 420 nm ($\epsilon_{\text{max}} = 36,000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) in 0.1 M citric acid/0.1 M disodium hydrogen phosphate buffer at pH 3. One enzymatic activity unit (U) was defined as the amount of enzyme that transforms 1 μmol of substrate per minute. Activity measurements were carried out on a 96-well plate using a double-beam UV–Vis spectrophotometer (SpectraMax Plus 3250, Molecular Devices Corp., Sunnyvale, CA). Results report the mean of triplicates \pm standard deviation.

5.2.3.6 Volume reduction, Total solids (TS), Total dissolved solids (TDS), Total suspended solids (TSS), and Chemical oxygen demand (COD)

The evaluation of the reduction of the volume of biosolid was assayed using the Standard Methods part 2540 [171]. TS was determined following the Standard Method 2540 B [171] and equation (1) (1 mL of the mixture was dried to a constant weight in aluminum dishes at 105°C).

$$\text{TS (mg/L)} = \frac{(A-B) \times 1000}{\text{sample volume (mL)}}$$

Where, A= weight of the dried residue + dish, in mg, and B= weight of the dish, in mg

TDS was determined following the Standard Method 2540 C [171] and equation (2). 1 mL of the mixture was filtered through a standard glass fiber filter and the filtrate was evaporated to dryness in a weighing dish and dried to a constant weight at 180°C.

$$\text{TDS (mg/L)} = \frac{(C - D) \times 1000}{\text{sample volume (mL)}}$$

Where, C= weight of the dried residue + dish, in mg, D= weight of the dish, in mg

TSS were determined following the standard method 2540 D [171] and equation (3). 1 mL of the mixture was filtered through a standard weighing glass fiber and the residue retained on the filter was dried to a constant weight at 105°C.

$$\text{TSS (mg/L)} = \frac{(E - F) \times 1000}{\text{sample volume (mL)}}$$

Where, E= weight of the filter + dried residue, in mg, and F= weight of the filter, in mg

The COD was measured with the LR HACH kit [0-1500 mg / L] according to US EPA (method 8000) [172]. Two (2) mL of the mixture was incubated and heated at 150°C for 120 min in a preheated reactor (DRB 200 reactor). The COD was spectrophotometrically measured at 350 nm.

5.2.3.7 Toxicity assay

To evaluate the toxicity of treated and untreated biosolids, a seed germination test was conducted according to the OECD guideline 208 [173]. The test was performed using 10 tomato (*Solanum lycopersicum*) seeds in each pot containing 100 g of soil and 0.3 g of biosolids. After 10 days of seed germination, the percentage of relative root elongation (RE), the relative seed germination (SG) and the germination index (GI) were determined according to equations 4-6.

$$RE = \frac{\text{mean root length}}{\text{mean root length in control}} \times 100$$

$$SG = \frac{\text{seeds germinated}}{\text{seeds germinated in control}} \times 100$$

$$GI = \frac{(SG) \times (RE)}{100}$$

5.2.3.8 Pharmaceuticals quantification

PhACs were analyzed according to Haroune et al. (2014) [99] using a positive electrospray ionization (ESI+) source in multi-reaction-monitoring (MRM) mode on an Acquity UPLC XEVO TQ mass spectrometer (Waters Corporation, Milford, MA) equipped with an Acquity UPLC HSS-T3 column (100mm × 2.1 mm, 1.8 µm) (see appendix C).

5.2.4 Results and discussion

Four biosolids concentrations were evaluated (12, 25, 50 and 100%). However, above 50 % of biosolids, no or weak fungal growth was observed. Thus, only results collected at 12 and 25 % of biosolids are reported.

5.2.4.1 Volume reduction

The reduction of the volume of biosolids is important in the handling, storage and overall management of the resource. The ability of the WRF strains to reduce biosolids volume was tested by evaluating the reductions of TS, TDS, TSS, and COD.

TS was efficiently reduced by both species, with up to 80% (after 35 days) in cultures containing 12% biosolids (Figure 5.1-A), and close to ~50% in cultures containing 25% biosolids (Figure 5.1-B). The reduction of TSS was significantly higher with *P. dryinus* (~100%) than *T. hirsuta* (~60%) for both concentrations, 12% and 25% biosolid (Figure 5.1-A and figure 5.1-B). TDS only decreased by 35% for *T. hirsuta* and 20% for *P. dryinus* in cultures containing 12% biosolids (Figure 5.1-A). In cultures containing 25% biosolids, no significant reduction of TDS by *P. dryinus* was observed after 35 days, while TDS increased by up to 100% in *T. hirsuta* cultures over the same period (Figure 5.1-B). This latter result may be due to the solubilization of the volatile solids (VS) following the breakdown of the biosolids structure [174]. Similar results were observed for COD with reduction ranging from 40 to 50 % with *T. hirsuta* and 50 to 80% with *P. dryinus* (Figure 5.1).

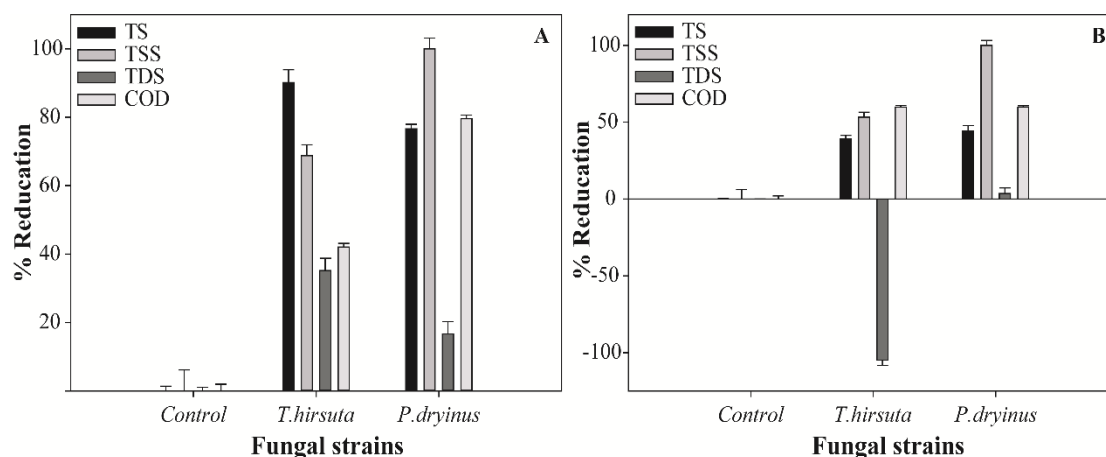


Figure 5-1: Biosolids volume reduction after 35 days of treatment with *T. hirsuta* and *P. dryinus* in media containing 12% (A) and 25% (B) of biosolids.

Overall, these results show the high efficiency of the tested WRF strains to reduce biosolids volume, likely due to the use of biosolids as a carbon source [22] or immobilization of the solid components of the sludge by the filamentous structure of the fungi hypha promoting settling [124,175].

5.2.4.2 PhACs removal

The removal of PhACs was analyzed over a 35-day period in culture solutions containing two different concentrations of biosolids (Appendix C). In cultures containing 12% biosolids, both strains achieved high removal efficiency (> 80%) for all tested NSAIs, except for carbamazepine and caffeine (< 20%) (Figure 5.2-A). Increasing biosolids content in the culture medium (from 12% to 25% biosolids) had contrasted effects; increasing the removal efficiency of some compounds (e.g., carbamazepine and caffeine by *T. hirsuta* but not *P. dryinus*), decreasing the removal of others (e.g., ketoprofen by *T. hirsuta*) (Figure 2B), and having no effects (e.g., acetaminophen by both strains). These results show that the removal efficiency is molecule, species and medium specific.

The results obtained for *T. hirsuta* are consistent with previous studies in a defined liquid culture medium reporting high removal of NSAIs by *T. hirsuta* [21,99]. Another study reported 50% elimination of carbamazepine by the WRF *T. versicolor* with 25% of biosolids after 42 days of treatment [109], similar to the performance reported here with *T. hirsuta* (after 35 days of treatment using 25 % of biosolids). The improved removal with higher biosolid concentration in the medium observed with *T. hirsuta* for carbamazepine and caffeine (Figure 5.2-A and figure 5.2-B) could result from the immobilization of the compounds on biosolids (compounds – organic matter interactions) and cross coupling reactions (intra- and inter-compound interactions) [124] .

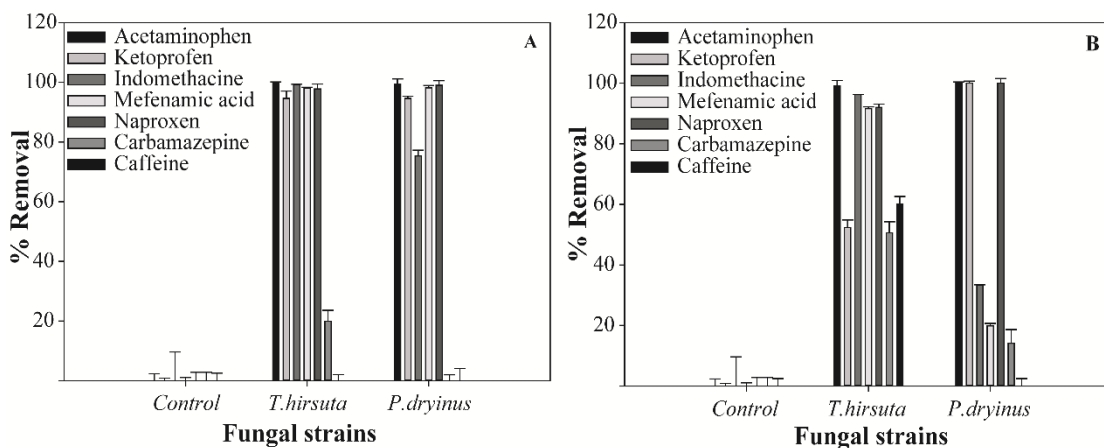


Figure 5-2: PhACs removal after 35 days of treatment with *T. hirsuta* and *P. dryinus* in media containing 12% (A) and 25% (B) of biosolids.

While further research is needed to better characterize mechanisms underpinning PhACs removal in biosolid supplemented media, these results shows that not only the selected WRF strains bear great potential for the reduction of biosolids volume, they can also efficiently reduce their PhACs load.

5.2.4.3 LAC activity

The patterns in LAC activity of both strains were significantly different in cultures containing 12% and 25% biosolids. With 12% biosolids, LAC activity by both strains reached a maximum after 5-15 days followed by a continuous decrease up to 35 days (Figure 5.3 A). With 25% biosolids, LAC activity increased with time up to 35 days (Figure 5.3 B). A longer lag phase was observed with *P. dryinus* than *T. hirsuta* at both biosolids concentrations (Figure 5.3 A and B). Results also show that LAC production is species and medium specific. After 35 days, LAC activity by *T. hirsuta* reached 80 U/L and 60 U/L in cultures containing 12% and 25% biosolids, respectively (Figure 5.3 A), while it reached only 26 U/L (12% biosolids) and 40 U/L (25% biosolids) for *P. dryinus* (Figure 5.3 B).

T. hirsuta also reached higher maximal activity (140 U/L at 12% biosolids and 60 U/L at 25% biosolids) than *P. dryinus* (90 U/L at 12% biosolids and 40 U/L at 25% biosolids). Not only did *T. hirsuta* achieve higher activity, it also achieved it significantly faster than *P. dryinus*. For instance, in culture containing 12% biosolids, *T. hirsuta* reached maximum activity after 5 days compared to 20 days for *P. dryinus* (Figure 5.3A).

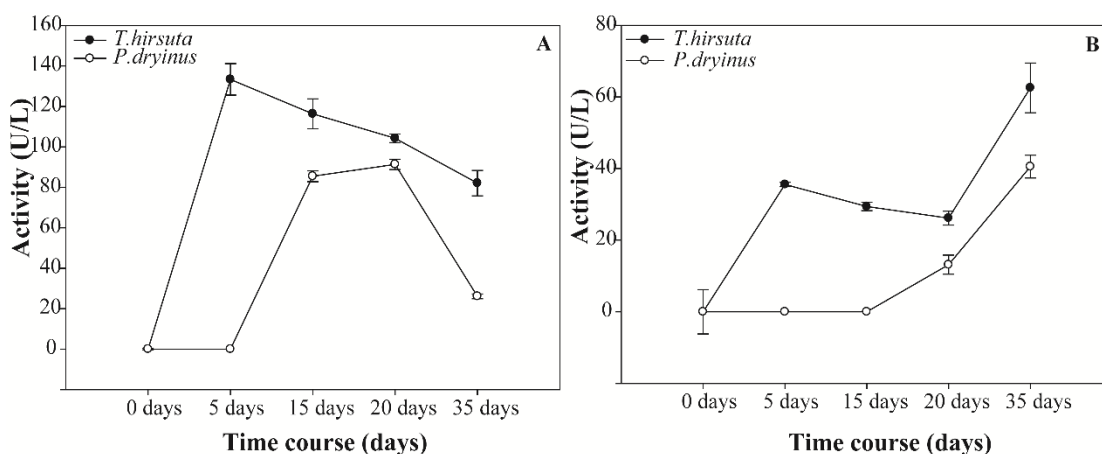


Figure 5-3: Laccase activity for *T. hirsuta* and *P. dryinus* in media containing 12% (A) and 25% (B) of biosolids.

These results suggest that biosolids from municipal waste could be a suitable low-cost medium for affordable LAC production and that *T. hirsuta* could be a more suitable candidate for LAC production in biosolid-based media as it reached higher activity quicker.

5.2.4.4 Toxicity assay

The germination test was performed with *T. hirsuta*-treated biosolids at 12% bioslurry because this concentration provided the best efficiency for both PhACs removal and total solids reduction and the highest LAC activity (figure 5.1, 5.2, 5.3). The results obtained are summarized in Table 5.1.

Table 5-1: Seed germination tests in biosolid amended soil.

Biosolids were added without treatment (control) and after 35 days of treatment by *T. hirsuta* in a medium containing 12% biosolids.

Sample	Relative seed germination (%)	Relative root elongation (%)	Germination index
Treated biosolids	100 ± 2.62	82.6 ± 6.82	82.6 ± 6.82
Untreated biosolids	80.0 ± 1.86	23.1 ± 2.86	18.5 ± 2.29

Values reported are means of 5 replicates ± standard deviation.

The germination index (GI), the relative root elongation (RE) and the relative seed germination (SG) all show significantly higher germination performances for treated biosolids as compared to untreated ones. This reduced toxicity could result from fungal removal of toxic organic or mineral compounds through active or passive uptake. The higher bioavailability of nutrients, after fungi treatment, promoting plant growth cannot be ruled out. Indeed, Voberková et al, (2017) [176] have shown that the inoculation of the WRF *T. versicolor* in municipal solid waste led to an improvement in the quality of the compost and enhanced plant growth.

5.2.5 Conclusion

The use of WRFs to decrease the volume of biosolids was demonstrated for the first time. Both tested strains achieved highly efficient reduction of biosolids volume in addition to efficient removal of several PhACs (e.g., NSAID) and reduction of biosolid toxicity to plants, already reported in the literature. This shows that WRF treatment of biosolids is a promising avenue of research for the reduction of biosolid volume, PhACs load and toxicity prior application on agricultural soil. Our data also show that biosolid can be used as a growth substrate for the low-cost production of LAC enzyme.

5.2.6 Acknowledgements

This work was supported by discovery grants from the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (HC: 371681-2014, and JPB: 386963-2011).

6 CHAPITRE VI : CONCLUSION

Cette recherche a démontré l'importance du développement d'une méthode analytique appliqué à l'analyse des biosolides. Elle a permis la caractérisation de deux stations d'épuration du Québec en soulignant la présence de TrOCs dans les biosolides municipaux. Il a également été démontré l'importance de la bioremediation par une approche fongique. Le biosolide peut effectivement être revalorisé en substrat de culture permettant la réduction de son volume, la production d'enzyme à forte valeur ajoutée, mais permet également de diminuer fortement la charge en TrOCs.

Les analyses effectuées et observations relevées ont permis :

- 1- Le développement d'une méthode d'analyse fiable et simple applicable à une large gamme de composés organiques et de matrices biologiques (Chapitre III). Cette méthode est un outil important pour la détection et la recherche des contaminants,
- 2- La caractérisation de deux stations d'épuration (Chapitre IV) ont permis d'avoir une vue rapprochée permettant de cibler spécifiquement la charge ainsi que les contaminants à éliminer,
- 3- La gestion des biosolides municipaux par souches fongiques (Chapitre V) a permis de démontrer leurs efficacités pour l'élimination des TrOCs et pour la réduction du volume des biosolides municipaux de manière concomitante.

En perspectives il est intéressant de pouvoir :

- 1- Prédire le comportement des composés organiques dans les matrices complexes et dans l'environnement récepteur.
- 2- Faire des études approfondies des risques environnementaux associés à la présence des contaminants dans l'environnement.
- 3- Valoriser les biosolides par leurs utilisations comme substrat de croissance pour les champignons et permettre ainsi la production de molécule à forte valeur ajoutée (enzymes).

Nos recommandations soulignent l'importance de la recherche dans la protection de l'environnement pour le bien-être sociétal, comme source également de l'innovation, de progrès technologique indispensable à l'évolution positive avec leurs conséquences sur la santé et

l'environnement en général. Dans le débat actuel des Nations sur la protection de l'environnement, cette thèse va permettre d'établir des passerelles avec l'industrie pour leurs applications.

« Nous n'héritons pas de la terre de nos parents, nous l'empruntons à nos enfants »

Antoine de Saint -Exupéry

7 APPENDIX

7.1 Appendix A

7.1.1 Informations supplémentaires du chapitre 3

Table 7-1: Developed methods for sludge extraction reported in literature.

Analytes	Matrices	Extraction	Purification	Recovery (%)	Analysis	References
Pesticides	Boues digérées	Soxhlet	Silica-alumina	-	GC/MS	[33]
Pharmaceutiques	Boues activée	UAE	SPE (Oasis MCX)	43-72	GC/MS	[34]
Pharmaceutiques	Boues	PLE	-	68-120	HPLC/MS	[35]
Pesticides	Boues	UAE	SPE (PSA)	80-113	HPLC/MS-MS	[36]
Pharmaceutiques	Boues	UAE	SPE	61-107	HPLC/DAD/FI	[37]
NSAIs	Boues	UAE	SPE-C18	98-107	GC/MS	[38]
Hormones	Boues	QuEChERS	dSPE	3-135	TOF/MS	[39]
Pharmaceutiques	Boues	UAE	-	76-131	LC/MS-MS	[40]
Antibiotiques	Boues	MAE	Salt cleaning	93-106	LC/MS	[31]
NSAIs	Boues	MAE-SPE	MgSO ₄ -NaCl	50	GC/MS	[41]
Pharmaceutiques	Boues	MAE	SPE (Oasis MCX)	40-152	UPLC/MS-MS	[42]
Pharmaceutiques	Boues	UAE	-	70	GC/MS	[43]
Pharmaceutiques	Boues	MSDP	-	82-130	UPLC/MS-MS	[177]

Table 7-2: Description of the selected compounds used for method development.

Analytes	Formula	MWA (g/mol)	Log KOW	CAS number
1-Naphthol	C ₁₀ H ₈ O	144	2,85	90-15-3
Acetaminophen	C ₈ H ₉ NO ₂	151	0,46	103-90-2
Acetamiprid	C ₁₀ H ₁₁ ClN ₄	222	0,80	160430-64-8
Aldicarb	C ₇ H ₁₄ N ₂ O ₂ S	190	1,13	116-06-3
Aldicarb.sulfone	C ₇ H ₁₄ N ₂ O ₄ S	222	-0,57	1646-88-4
Aldicarb.sulfoxide	C ₇ H ₁₄ N ₂ O ₃ S	206	-0,78	1646-87-3
Atenolol	C ₁₄ H ₂₂ N ₂ O ₃	266	0,16	29122-68-7
Atrazine	C ₈ H ₁₄ ClN ₅	215	2,61	1912-24-9
Azinphos-methyl	C ₁₀ H ₁₂ N ₃ O ₃ PS ₂	317	2,75	86-50-0
Bendiocarb	C ₁₁ H ₁₃ NO ₄	223	1,70	22781-23-3
Bentazon	C ₁₀ H ₁₂ N ₂ O ₃ S	240	2,34	25057-89-0
Bezafibrate	C ₁₉ H ₂₀ ClNO ₄	361	3,97	41859-67-0
Boscalid	C ₁₈ H ₁₂ Cl ₂ N ₂ O	343	2,96	188425-85-6
Caffeine	C ₈ H ₁₀ N ₄ O ₂	194	-0,07	58-08-2
Carbamazepine	C ₁₅ H ₁₂ N ₂ O	236	2,45	298-46-4
Carbaryl	C ₁₂ H ₁₁ NO ₂	201	2,36	63-25-2
Carbendazim	C ₉ H ₉ N ₃ O ₂	191	1,52	10605-21-7
Carbofuran	C ₁₂ H ₁₅ NO ₃	221	2,32	1563-66-2
Chlorfenvinphos	C ₁₂ H ₁₄ Cl ₃ O ₄ P	359	3,81	470-90-6
Chlorpyrifos	C ₉ H ₁₁ Cl ₃ NO ₃ PS	350	4,96	2921-88-2
Chlortoluron	C ₁₀ H ₁₃ ClN ₂ O	212	2,41	15545-48-9
Ciprofloxacin	C ₁₇ H ₁₈ FN ₃ O ₃	331	0,28	85721-33-1
Clothianidin	C ₆ H ₈ ClN ₅ O ₂ S	249	0,70	210880-92-5
Coumaphos	C ₁₄ H ₁₆ ClO ₅ PS	362	4,13	56-72-4
Cyanazine	C ₉ H ₁₃ ClN ₆	240	2,22	21725-46-2
Cyclophosphamide	C ₇ H ₁₅ Cl ₂ N ₂ O ₂ P	261	0,63	50-18-0
Diazinon	C ₁₂ H ₂₁ N ₂ O ₃ PS	304	3,81	333-41-5
Dimethoate	C ₅ H ₁₂ NO ₃ PS ₂	229	0,78	60-51-5
Dinotefuran	C ₇ H ₁₄ N ₄ O ₃	202	-0,64	165252-70-0
Diuron	C ₉ H ₁₀ Cl ₂ N ₂ O	233	2,68	330-54-1
Fenofibrate	C ₂₀ H ₂₁ ClO ₄	360	5,19	49562-28-9
Fludioxonil	C ₁₂ H ₆ F ₂ N ₂ O ₂	248	4,12	13141-86-1
Hexazinone	C ₁₂ H ₂₀ N ₄ O ₂	252	1,85	51235-04-2
Ibuprofen	C ₁₃ H ₁₈ O ₂	206	3,97	15687-27-1
Ifosfamid	C ₇ H ₁₅ Cl ₂ N ₂ O ₂ P	261	0,86	3778-73-2
Imazethapyr	C ₁₅ H ₁₉ N ₃ O ₃	289	1,49	81335-77-5
Imidacloprid	C ₉ H ₁₀ ClN ₅ O ₂	255	0,57	138261-41-3
Indomethacin	C ₁₉ H ₁₆ ClNO ₄	357	4,27	53-86-1
lprodione	C ₁₃ H ₁₃ Cl ₂ N ₃ O ₃	330	3,00	36734-19-7
Isoproturon	C ₁₂ H ₁₈ N ₂ O	206	2,87	34123-59-6

ketoprofen	C16H14O3	254	3,12	22071-15-4
Kresoxim.Methyl	C18H19NO4	313	3,40	143390-89-0
Linuron	C9H10Cl2N2O2	249	3,20	330-55-2
Malathion	C10H19O6PS2	330	2,36	121-75-5
Mefenamic acid	C15H15NO2	241	5,12	61-68-7
Methibenzuron	C10H11N3OS	221	2,64	18691-97-9
Metobromuron	C9H11BrN2O2	259	2,38	3060-89-7
Metolachlor	C15H22ClNO2	283	3,13	87392-12-9
Metoxuron	C10H13ClN2O2	228	1,64	19937-59-8
Monolinuron	C9H11ClN2O2	214	2,30	1746-81-2
Naproxen	C14H14O3	230	3,18	22204-53-1
Nitenpyram	C11H15ClN4O2	270	-0,66	150824-47-8
Ofloxacin	C18H20FN3O4	361	-0,39	82419-36-1
Omethoate	C5H12NO4PS	213	-0,74	1113-02-6
Parathion	C10H14NO5PS	291	3,83	56-38-2
Pendimethalin	C13H19N3O4	281	5,18	40487-42-1
Permethrin	C21H20Cl2O3	391	6,50	52645-53-1
Phosmet	C11H12NO4PS2	317	2,78	732-11-6
Piperonyl.Butoxide	C19H30O5	338	4,75	51-03-6
Pyraclostrobin	C19H18ClN3O4	387	3,99	175013-18-0
Pyrimethanil	C12H13N3	199	2,84	53112-28-0
Sebuthylazin	C9H16ClN5	229	2,61	7286-69-3
Simazine	C7H12ClN5	201	2,18	122-34-9
Spinosad	C42H71NO9	734	4,00	168316-95-8
Terbutylazine	C9H16ClN5	229	3,21	5915-41-3
Thiabendazole	C10H7N3S	201	2,47	148-79-8
Thiacloprid	C10H9ClN4S	252	1,26	111988-49-9
Thiamethoxam	C8H10ClN5O3S	291	-0,13	153719-23-4
Trifloxystrobin	C20H19F3N2O4	408	4,50	141517-21-7
Trimethoprim	C14H18N4O3	290	0,91	738-70-5

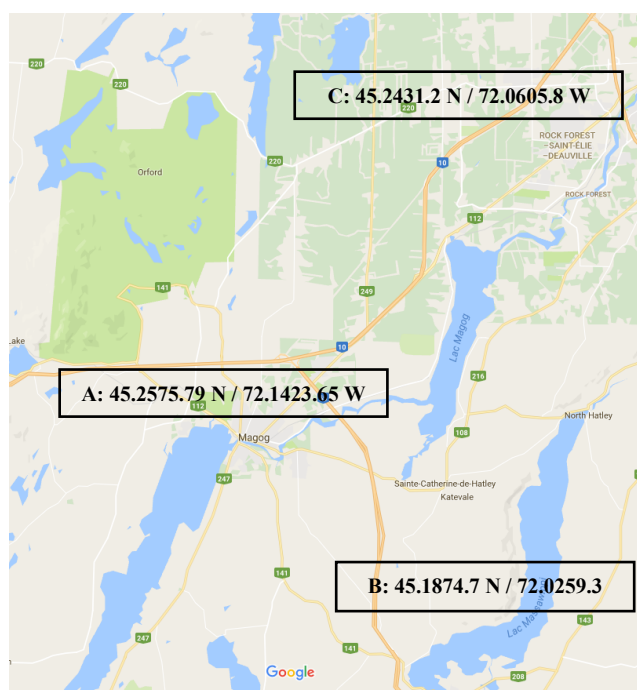


Figure 7-1: Geo-localization of sampling points.

Sampling details

Dry sewage sludge used for the development and optimization of analytical method was obtained from the wastewater treatment plant (WWTP) of Magog (A) (Qc, Canada). The sediments were from Massawipi Lakes (B) (Qc, Canada) and from Montjoie Lakes (C) (Qc, Canada), the Benthic organisms were from Massawipi lakes (B) (Qc, Canada).

The sampling for sludge and sediment were done according to the EPA Victoria guidelines, 2009 [178]. Sludge samples were collected directly with an amber glass bottle (250 mL). The sediment samples were

collected to a depth of 5 cm using a plastic pond sampler of 4 cm and transferred to an amber glass bottle (250 mL). The benthic organisms were obtained with the sediments and washed with a sieve with a mesh size of 0.5 mm to reduce the fine materials present in the sample and packed in plastic bags. All the samples were lyophilized for 24h and sieved to have a final particle size of 1 mm. The samples were stored in the dark at -20°C before extraction.

Table 7-3: Geographical coordinates of sampling.

Matrix	Region	Municipality	Administrative region	Geolocalization	
				N	W
Sludge Waste water treatment plant	Québec	Memphrémagog	Estrie	45.2575.79	72.1423.65
Sediment A Lac Massawipi	Québec	Memphrémagog	Estrie	45.1874.7	72.0259.3
Sediment B Lac Montjoie	Québec	Saint-Denis De Brompton	Estrie	45.2431.2	72.0605.8
Benthic organisms A Lac Massawipi	Québec	Memphrémagog	Estrie	45.1874.7	72.0259.3
Benthic organisms B Lac Massawipi	Québec	Memphrémagog	Estrie	45.1874.7	72.0259.3

Table 7-4: Percentage of matrix effect for solvent and salt variation in sludge (A: NaCl/Na₂SO₄, B: NaCl/ Na₂SO₄ /AcOam, C: NaCl/ Na₂SO₄/EDTA/ D: NaCl/ Na₂SO₄ /AcOam/EDTA) (sd < 20).

Active ingredient	MeCN (%)				AcOet (%)				DMK (%)			
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
1-naphthol	-31.8	-12.2	-13.0	-5.40	-28.6	-16.0	-27.6	-12.0	-32.2	-11.8	-27.0	-15.2
Acetaminophen	-25.8	-57.6	-35.4	-2.80	-8.60	0.80	-28.8	-13.4	-35.2	-3.80	-27.8	-24.0
Acetamiprid	-26.8	-11.6	-16.8	0.00	-25.8	-24.6	-30.0	-4.80	-26.2	-12.2	-27.0	-14.8
Aldicarb-sulfone	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Atrazine	-25.8	-30.8	-19.6	-47.8	-5.00	5.20	-7.60	-5.80	-23.2	-10.2	-37.2	-27.0
Azinphos-Methyl	-32.8	-13.8	0.20	-18.0	-15.0	-25.4	-36.0	-44.8	-33.0	-25.2	-19.2	-36.0
Bendiocarb	-17.6	-7.20	-2.00	-35.4	-14.8	-1.00	-10.6	-2.60	-19.8	0.60	-7.40	-8.0
Bentazone	-41.0	-18.4	-26.4	-3.20	0.80	-12.2	-14.2	-9.40	-3.20	1.80	-10.6	-12.4
Bezaflubate	-22.4	-13.4	-10.4	-6.20	-16.8	3.20	-18.2	-13.6	-8.40	-13.0	-28.6	-15.6
Boscalid	-13.8	-17.4	-4.80	2.20	-18.6	-24.2	-24.2	-19.6	-20.4	-9.80	-20.6	-10.8
Caffeine	-51.8	-19.4	-4.60	1.20	-56.6	-9.20	-18.0	-50.8	-43.0	-19.0	-51.4	-32.4
Carbamazepine	-31.0	-28.4	-21.4	-29.8	-25.0	-19.8	-70.4	-16.4	-35.2	-62.0	-103	-41.4
Carbaryl	-29.0	-8.40	-12.0	-31.0	-29.8	-20.0	-28.6	-5.60	-29.2	-8.20	-24.0	-15.8
Carbendazim	-15.0	-10.2	-37.2	-5.20	-5.00	-12.2	-6.00	-7.00	-23.2	-21.0	-11.6	-28.6
Carbofuran	-25.4	-12.8	-7.20	-38.4	-23.6	-8.80	-19.2	-2.20	-28.2	-7.60	-14.2	-6.60
Chlofenvinphos	-12.6	-5.00	-9.60	-10.2	-37.0	-20.4	-23.2	0.80	-9.80	-11.8	-11.4	-11.8
Chlorotoluron	-25.4	-7.80	-9.60	-26.6	-22.8	-16.6	-22.4	-9.40	-25.6	-4.60	-17.6	-13.0
Chlorpyrifos	0.00	-19.6	-5.00	-1.80	-17.0	-3.20	-17.6	-6.20	-6.20	-1.80	-0.80	-4.00
Chlotianidine	-21.8	-16.0	-11.8	-24.0	-24.8	-22.8	-27.2	-15.8	-25.0	-17.8	-25.4	-7.60
Coumaphos	-23.4	-21.0	-13.6	-6.20	-15.4	-20.4	-23.2	-28.8	-28.2	-22.0	-26.0	-4.00
Cyanazine	-6.60	-10.0	-8.20	-33.0	-21.2	-22.2	-8.40	-11.4	-20.6	-7.00	-11.0	-4.00
Cyclophosphamide	-19.0	-16.0	-6.00	-6.60	-16.4	-28.2	-17.4	-41.6	-22.2	-15.8	-28.2	-12.4
Diazinon	-1.00	-5.80	-4.20	-12.8	-0.60	-6.80	4.80	-15.4	1.40	-4.40	-3.60	-6.80
Dimethoate	-21.8	-16.4	-13.4	-37.4	-11.2	-4.20	-11.6	-10.6	-24.6	-14.8	-22.4	-7.60
Dinotefuran	-47.2	-9.80	-25.6	-26.2	-29.2	-8.60	-30.8	-7.60	-28.6	-8.60	-33.6	-25.0
Diuron	-26.8	-16.2	-12.8	-32.4	-25.4	-13.4	-28.0	-7.20	-33.8	-17.6	-26.2	-8.60
Fenofibrate	-18.0	-22.0	-25.0	-20.0	-20.8	-11.6	-45.6	-29.8	-31.4	-21.2	-24.0	-2.80
Fludioxonil	-15.6	-8.00	-8.60	-20.2	-17.4	-15.6	-12.8	-22.6	-27.8	1.40	-24.8	-26.2
Hexazinon	-29.6	-7.80	-5.00	-37.2	-27.6	-15.6	-21.0	-4.20	-28.8	-10.6	-14.8	-4.20
Ibuprofen	-5.80	-13.4	-17.0	-12.2	-26.6	2.40	-8.30	-45.6	-1.80	-3.60	-6.80	-3.20
Imazethapyr	-26.8	-9.80	-6.00	-14.0	-37.2	-6.20	-36.0	-21.2	-18.4	-7.20	-15.8	-8.60
Imidaclopride	-19.8	-8.40	-7.60	-25.6	-21.2	-20.4	-27.8	-13.8	-21.4	-16.0	-20.2	-4.20
Indometacine	-32.8	-36.4	-24.4	1.60	-21.4	-13.0	-31.9	-15.0	-31.3	-26.4	-27.6	-1.20
Isoproturon	-24.4	-8.20	-4.80	-1.20	-26.6	-13.2	-22.0	-2.60	-28.0	-3.60	-16.4	-12.8
Ketoprofen	-22.4	-6.60	-10.8	-30.6	-26.4	-9.20	-25.2	-19.0	-27.2	-14.6	-25.6	-11.0
Kresoxim Methyl	-3.80	-3.40	-1.60	-10.4	-6.80	-16.6	-9.80	-11.8	-10.0	-2.40	-3.80	-1.40
Linuron	-25.4	-8.40	-1.40	-27.8	-18.0	-17.0	-12.0	-0.80	-26.0	-12.4	-15.4	-3.00
Malathion	-14.2	1.60	-4.20	-29.6	0.00	-9.40	-12.0	-19.4	-12.4	-5.20	-9.20	-4.00

Mefenamic Acid	-27.6	-46.4	-6.00	-36.4	-34.8	1.20	-43.0	-4.00	-37.2	-26.2	-26.6	-0.40
Methylbenzuron	-25.8	-8.40	-7.60	-35.4	-27.6	-17.0	-21.8	-2.80	-26.0	-6.20	-16.4	-10.2
Metobromuron	-19.6	-11.2	-15.6	-32.4	-26.0	-6.40	-49.4	-2.00	-23.0	-21.6	-17.8	3.80
Metolachlor	-17.8	-8.20	0.60	n/a	-65.4	-10.8	-9.80	-46.8	-4.20	-37.4	n/a	n/a
Metoxuron	-24.0	-6.20	-13.6	2.60	-28.2	-14.0	-30.4	-16.2	-25.4	-7.60	-23.2	-25.6
Monolinuron	-18.8	-20.4	-5.40	-31.2	-17.8	-4.40	-19.2	-1.40	-5.20	-10.0	-9.00	-11.0
Naproxen	-15.4	-21.2	-29.0	3.80	-7.00	4.80	-12.8	-29.8	-9.60	-9.20	-11.6	-2.40
Nitenpyram	-15.6	-19.8	-12.6	-16.4	-9.80	-3.20	-3.00	-18.2	-11.2	-21.4	-8.40	-22.0
Omethoate	-22.2	-14.2	-17.2	-29.2	-16.6	-32.8	-26.6	-14.2	-25.6	-6.00	-31.0	-25.0
Pendilethaline	-3.80	-18.8	-3.80	-5.40	-32.4	-16.2	-32.2	-14.0	-8.40	-15.8	-5.20	-36.0
Peperonil Butoxide	-24.0	-24.4	-6.00	-15.6	-31.8	-14.8	-26.2	-20.6	-29.0	-25.6	-27.6	-29.8
Pyraclostrobin	-25.8	-23.0	-10.6	-6.40	-36.2	-10.8	-32.0	-8.60	-29.6	-21.2	-23.2	-22.0
Pyrimethanil	-34.2	-29.6	-37.4	0.60	-38.6	-10.2	-58.8	1.60	-42.2	-22.6	-48.0	-25.4
Sebutylazine	-27.4	-18.0	-9.80	-3.60	-26.4	-14.6	-22.0	-1.20	-29.8	-18.4	-20.2	-22.0
Simazine	-25.0	-1.60	-3.80	-28.4	-20.4	-9.00	-9.40	-1.20	-26.4	-1.20	-12.8	-11.6
Spinosad A	3.00	-7.00	-5.80	-10.2	-9.00	-5.40	-11.0	-5.80	-9.80	-4.60	-6.60	-12.0
Terbutylazine	-25.4	-18.4	-12.8	-25.0	-30.2	-8.00	-26.4	-13.6	-31.0	-20.4	-17.6	-19.3
Thiabendazole	-9.60	-12.2	-5.60	-5.80	-0.40	0.60	-5.00	5.20	-14.2	-5.80	-38.6	-32.8
Thiachlopride	-33.2	-23.0	-21.4	-28.6	-38.6	-2.40	-39.6	-23.0	-30.8	-22.2	-31.0	-8.80
Thiametoxam	-32.0	-15.8	-22.4	-36.4	-28.0	-26.8	-33.0	-19.4	-35.8	-10.2	-32.6	-22.4
Trifloxistrobine	-20.4	-20.8	-11.0	0.60	-26.4	-17.2	-25.4	-20.4	-24.6	-21.4	-23.0	-26.0
Trimethoprim	-17.6	-34.0	0.80	-15.6	-3.20	-13.6	-5.40	-21.0	-17.0	-19.4	-18.0	-18.4
Average	-21.6	-15.6	-14.9	-17.3	-21.6	-11.8	-22.5	-14.1	-22.4	-13.4	-21.5	-14.5

Table 7-5: LOD and LOQ (n=3) For other matrices.

Sediment: A: Massawipi. B: Montjoie. / Organisms: A: Chironomidae. B: Oligochaeta

Active ingredient	Method Limits							
	Sediment A		Sediment B		Organism A		Organism B	
	LOD	LOQ	LOD	LOQ	LOD	LOQ	LOD	LOQ
1-naphthol	0.20	0.67	0.14	0.48	0.22	2.07	0.23	1.41
Acetaminiphen	1.01	2.02	0.34	1.11	0.62	0.98	0.18	0.60
Acetamiprid	0.29	0.82	0.38	0.94	0.59	1.25	1.05	2.24
Aldicarb-sulfone	0.64	0.82	0.60	1.02	0.87	0.99	0.38	0.57
Atrazine	0.34	0.74	1.79	2.24	0.13	0.43	0.62	1.28
AzinphosMethyl	1.39	4.63	0.79	1.26	0.37	1.24	0.73	2.43
Bendiocarb	0.78	1.03	0.49	0.82	0.48	0.86	0.57	0.94
Bentazone	0.78	1.35	0.78	0.93	1.67	5.57	0.85	1.03
Bezaflubate	0.33	0.91	0.00	0.00	0.00	0.00	0.44	1.45
Boscalid	0.46	1.53	0.10	0.34	0.29	0.97	0.44	1.47
Caffeine	1.98	3.58	0.89	1.96	0.28	0.94	0.25	0.82
Carbamazepine	0.27	0.91	0.44	0.79	0.24	0.79	0.50	0.99
Carbaryl	0.14	0.74	0.31	0.91	0.39	0.96	0.18	0.59
Carbendazim	0.38	1.28	0.38	1.27	0.63	2.11	0.50	1.67
Carbofuran	0.28	0.81	0.58	1.98	0.18	0.50	0.38	0.63
Chlofenvinphos	0.13	0.43	0.51	1.70	0.77	2.55	0.64	2.15
Chlorotoluron	0.68	1.02	0.97	1.03	0.39	1.18	0.60	0.96
Chlorpyrifos	0.13	0.43	0.04	0.13	0.11	0.37	1.26	4.20
Chlortianidine	0.31	0.93	0.26	0.87	0.27	0.90	0.28	0.94
Coumaphos	0.85	1.09	0.31	1.03	0.42	0.86	0.60	1.99
Cyanazine	0.59	0.96	0.80	1.06	0.57	0.90	0.47	0.95
Cyclophosphamid	0.62	0.83	0.59	0.85	0.55	0.90	0.37	0.97
Diazinon	0.34	1.15	0.23	0.78	0.39	1.29	0.24	0.79
Dimethoate	0.81	1.03	0.72	1.08	0.45	0.97	0.39	0.95
Dinotefuran	0.29	0.86	1.35	3.10	0.24	0.95	0.43	1.45
Diuron	0.51	1.70	0.87	1.03	0.40	1.35	0.82	2.74
Fenofibrate	1.04	3.46	0.53	1.18	0.31	1.02	0.21	0.70
Fludioxonil	0.23	0.76	0.72	2.40	0.28	0.94	1.79	3.47
Hexazinon	0.76	1.03	0.38	0.76	0.77	1.26	0.50	1.02
Ibuprofen	0.38	1.27	0.21	0.71	0.24	0.80	0.49	1.63
Imazethapyr	0.50	0.84	0.32	0.96	0.13	0.32	0.25	0.60
Imidaclopride	0.86	2.86	0.67	1.00	0.85	2.83	1.05	1.59
Indometacin	0.44	0.82	0.53	0.77	0.27	0.89	0.92	1.97
Isoproturon	0.47	0.72	0.40	1.32	0.17	0.55	0.12	0.39
Ketoprofen	0.63	1.21	0.52	0.74	0.18	0.60	0.56	1.88
KresoximMethyl	0.34	1.13	0.66	2.20	0.90	3.01	0.68	2.25
Linuron	0.73	1.23	0.91	1.03	0.96	1.04	0.45	0.90
Malathion	0.83	2.76	0.48	1.59	0.11	0.36	0.25	0.84
Mefenamic Acid	0.60	1.02	0.84	1.61	0.80	1.13	0.25	0.82
Methylbenzuron	0.38	0.73	0.90	1.30	0.94	1.16	1.36	2.53
Metobromuron	0.52	0.81	0.23	0.44	0.39	0.73	1.03	2.92
Metolachlor	0.62	1.02	0.36	0.95	1.56	2.01	1.06	2.34
Metoxuron	0.49	0.82	0.61	1.03	0.25	0.84	0.20	0.68
Monolinuron	0.87	1.10	0.25	0.48	0.64	0.84	0.99	1.62
Naproxen	0.48	0.98	0.63	2.10	0.31	1.04	1.09	3.62
Nitenpyram	0.94	1.31	0.24	0.79	0.60	2.01	0.37	1.22
Omethoate	0.99	1.43	0.40	0.94	1.00	1.65	0.24	0.80
Pendimethalin	0.32	1.06	1.07	2.23	0.43	1.44	0.39	1.29
PeperonilButoxide	0.06	0.19	0.75	1.25	2.09	6.96	0.94	3.14
Pyraclostrobin	0.43	1.42	1.92	4.78	0.72	2.41	0.27	0.91
Pyrimethanil	0.81	2.69	0.97	3.23	0.14	0.47	0.25	0.82
Sebutylazine	0.10	0.34	0.39	0.89	0.10	0.33	0.66	0.83
Simazine	0.28	0.94	1.09	2.31	0.97	1.32	0.81	1.27
Spinosad A	0.38	1.02	0.86	2.87	0.94	1.10	0.77	2.57
Terbutylazine	0.23	0.84	0.53	1.18	0.36	1.18	0.36	1.20
Thiabendazole	0.64	3.21	0.34	1.12	0.62	2.06	1.79	3.47
Thiachlopride	0.21	0.69	0.60	1.33	0.48	0.89	0.72	1.02
Thiametoxam	0.24	0.67	0.53	1.61	1.91	2.60	1.13	2.42
Trifloxystrobin	0.54	0.79	0.66	1.21	0.13	0.43	0.28	0.85
Trimethoprim	0.60	0.72	2.06	3.40	0.32	0.61	0.75	1.28

Table 7-6: General factorial designing the effect of solvent and salt.

Factor	Name	Type	Level	Level name
A	Solvent	Categoric	3	AcOet MeCN DMK
B	Salt	Categoric	4	NaCl-Na ₂ SO ₄ NaCl-Na ₂ SO ₄ -AcOam NaCl-Na ₂ SO ₄ -EDTA NaCl-Na ₂ SO ₄ -AcOam-EDTA

Table 7-7: General factorial designing the matrix effect.

Factor	Name	Type	Level	Level name
A	Solvent	Categoric	3	AcOet MeCN DMK
B	Salt	Categoric	4	NaCl-Na ₂ SO ₄ NaCl-Na ₂ SO ₄ -AcOam NaCl-Na ₂ SO ₄ -EDTA NaCl-Na ₂ SO ₄ -AcOam-EDTA

Table 7-8: General factorial designing the effect of the volume ratio EtOAc/water.

Factor	Name	Type	Level	Level name	Units (v/v)
A	H ₂ O	Categoric	2	1	mL
B	EtOAc			4	

Table 7-9: General factorial designing the effect of the dispersive solids phase extraction.

Factor	Name	Type	Level	Level name	Units (w/w)
A	C ₁₈ /Na ₂ SO ₄	Categoric	3	50-200	mg
B	C ₁₈ /MgSO ₄			100-150	
C	C ₁₈ /Alumina			200-50	

Table 7-10: General factorial designing the effect of the sample mass.

Factor	Name	Type	Level	Level name	Units
A	Sample mass	Categoric	3	0.25	g
				0.5	
				1	

Table 7-11: Paramètres statistiques du modèle 2FI pour chaque condition optimisée.

Effet du solvant et sels d'extraction					
	Sum of		Mean	p-value	significant
Source	Squares	df	Square	Prob > F	
Model	1407.51	11	127.96	< 0.0001	
Effet de matrice					
	Sum of		Mean	p-value	significant
Source	Squares	df	Square	Prob > F	
Model	365.90	11	33.26	< 0.0001	
Effet du ratio					
	Sum of		Mean	p-value	significant
Source	Squares	df	Square	Prob > F	
Model	1999.25	3	666.42	0.0002	
Effet de la purification					
	Sum of		Mean	p-value	significant
Source	Squares	df	Square	Prob > F	
Model	7186.79	8	898.35	< 0.0001	
Effet de la masse					
	Sum of		Mean	p-value	significant
Source	Squares	df	Square	Prob > F	
Model	4541.24	2	2270.62	< 0.0001	

Table 7-12: Percentage recovery for solvent and salt variation in sludge (spike = 100 ng/g, n=3, sd < 20) (A: NaCl/Na2SO4, B: NaCl/ Na2SO4 /AcOam, C: NaCl/ Na2SO4/EDTA/ D: NaCl/ Na2SO4 /AcOam/EDTA).

Active ingredient	MeCN (%)				AcOet (%)				DMK (%)			
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
1-naphthol	37.9	73.9	62.4	90.0	49.5	69.0	52.3	76.0	36.6	74.1	42.6	63.8
Acetaminiphen	46.7	43.2	n/a	93.6	75.8	102	46.9	72.7	38.7	90.1	44.6	67.9
Acetamidiprid	45.8	71.0	55.3	100	55.5	54.6	48.8	90.7	44.5	71.6	41.6	96.9
Aldicarb	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
Aldicarb-sulfone	49.8	89.0	53.4	104	46.1	50.9	40.3	72.2	46.6	83.2	44.2	88.7
Aldicarb-sulfoxide	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
Atenolol	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
Atrazine	42.2	29.4	43.0	n/a	91.4	112	85.8	88.1	n/a	77.4	n/a	91.7
Azinphos-Methyl	23.0	65.2	101	47.4	61.7	56.2	n/a	n/a	31.0	35.1	46.4	41.2
Bendiocarb	58.1	82.9	93.8	24.0	70.6	97.6	79.7	94.0	54.8	101	78.5	92.8
Bentazone	25.7	60.7	35.6	94.5	101	79.9	79.2	84.6	94.8	104	80.7	84.2
Bezafibrate	44.6	61.9	64.9	85.3	57.1	118	53.8	51.8	68.9	62.4	33.8	39.3
Boscalid	58.9	52.5	77.1	105	52.3	45.5	46.0	46.2	48.0	67.8	44.0	42.0
Caffeine	n/a	55.7	87.7	102	n/a	81.6	67.7	n/a	20.1	54.8	n/a	60.8
Carbamazepine	40.4	58.6	10.7	59.1	56.8	70.6	31.5	74.1	37.1	38.5	18.1	29.6
Carbaryl	38.6	80.3	62.7	38.5	47.4	61.4	49.8	88.2	37.9	79.6	44.4	78.3
Carbendazim	71.4	77.7	n/a	90.0	88.4	76.6	86.4	87.2	58.1	50.2	75.6	71.3
Carbofuran	44.1	69.5	79.0	21.0	55.3	80.5	63.5	95.4	42.2	83.0	63.4	92.3
Chlofenvinphos	52.6	79.2	38.5	69.5	33.9	60.0	47.5	103	59.8	43.3	57.5	91.2
Chlorotoluron	46.6	82.8	73.5	41.4	57.8	67.2	60.7	80.0	48.0	88.8	58.3	76.6
Chlorpyrifos	n/a	n/a	n/a	88.5	24.8	83.0	26.7	51.6	46.6	74.3	n/a	29.6
Chlotianidine	37.4	53.2	52.0	39.4	38.9	44.1	38.7	59.1	31.3	47.0	32.1	87.2
Ciprofloxacin	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
Coumaphos	29.9	37.5	46.9	83.9	45.4	51.2	38.3	26.9	25.8	36.8	31.2	22.2
Cyanazine	73.4	75.1	63.1	27.6	54.5	58.9	78.8	77.1	45.8	81.3	64.3	97.8
Cyclophosphamide	57.0	62.8	78.6	87.4	67.5	48.4	63.6	23.3	53.0	64.9	42.2	n/a
Diazinon	95.1	59.7	76.4	n/a	97.7	70.2	119	73.3	108	65.1	57.1	83.3
Dimethoate	54.0	64.2	63.4	23.1	74.6	87.0	72.8	78.8	49.0	67.3	48.9	80.7
Dinotefuran	n/a	76.2	29.3	41.3	35.7	74.6	29.7	79.0	25.9	69.5	20.8	62.9
Diuron	40.2	62.0	59.8	29.3	48.0	71.6	44.2	83.2	34.5	58.3	37.6	74.6
Fenofibrate	50.3	36.1	n/a	52.8	54.6	72.9	n/a	30.7	28.3	47.0	40.6	34.7
Fludioxonil	74.3	82.1	69.5	62.0	75.7	71.5	76.6	56.5	52.9	103	53.0	101
Hexazinon	41.7	82.0	86.8	23.1	54.9	73.5	66.6	92.2	42.6	76.0	66.8	69.7
Ibuprofen	42.0	83.1	38.9	74.2	46.8	78.4	105	0.0	98.1	90.3	52.1	33.6
Ifosfamide	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
Imazethapyr	47.5	54.2	82.8	59.5	32.9	71.3	31.6	38.0	59.5	62.9	62.0	53.2
Imidaclopride	42.1	71.2	65.1	30.4	46.7	47.4	37.1	65.5	39.9	51.8	40.2	78.4
Indometacine	0.0	0.0	0.0	104	32.3	60.6	19.0	57.1	21.0	29.8	33.3	0.0
Iprodione	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
Isoproturon	51.8	81.3	87.2	97.6	57.0	75.6	63.2	95.2	49.3	92.0	65.3	81.4
Ketoprofen	47.4	82.7	67.1	29.5	46.6	76.2	50.2	54.1	42.4	65.9	44.6	41.0
Kresoxim Methyl	82.7	86.9	87.7	52.7	77.9	56.1	66.0	77.4	61.8	89.7	83.2	51.1
Linuron	39.2	72.0	93.9	31.2	59.6	53.3	68.6	98.1	39.8	63.3	53.1	94.1
Malathion	64.9	104	84.7	22.9	100	76.9	71.7	48.1	68.7	87.4	71.1	n/a
Mefenamic Acid	31.7	27.5	77.8	n/a	n/a	105	n/a	85.9	27.1	39.6	48.7	77.1
Methylbenzuron	42.9	79.3	77.0	17.3	49.8	64.3	59.6	93.7	44.0	84.2	58.0	79.5
Metobromuron	46.5	69.7	52.2	22.1	43.7	83.0	n/a	94.7	41.6	48.8	46.4	78.1
Metolachlor	53.2	55.4	104	n/a	29.2	81.3	67.3	40.6	73.8	8.5	n/a	n/a
Metoxuron	53.9	86.6	66.0	105	54.7	76.7	52.4	70.7	51.5	83.3	51.5	70.5
Monolinuron	52.3	37.0	81.5	30.7	61.5	87.2	60.2	96.2	79.7	75.5	69.0	70.7
Naproxen	61.9	32.9	n/a	110	77.4	115	71.3	17.2	73.2	73.3	69.3	75.9
Nitenpyram	59.8	47.6	55.9	61.0	72.8	73.8	88.9	25.4	68.0	33.1	69.6	69.6
Ofloxacin	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
Omethoate	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	94.2	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
Parathion	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
Pendimethalin	63.5	27.7	72.1	77.9	19.8	51.2	22.2	43.6	41.7	29.5	66.2	79.1
Peperonil Butoxide	43.4	43.5	75.0	68.0	41.3	72.3	46.3	59.1	35.8	43.6	41.8	70.2
Permethrine	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
Phosmet	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
Pyraclostrobin	30.3	40.1	56.2	84.1	28.5	76.5	32.5	78.6	26.0	41.4	36.6	56.8
Pyrimethanil	30.2	n/a	n/a	102	31.8	72.7	n/a	105	23.8	42.6	n/a	41.0
Sebutylazine	38.8	55.0	70.1	91.8	45.9	69.8	57.5	97.5	35.8	55.6	53.0	71.0
Simazine	47.0	96.2	89.6	41.8	62.1	82.3	82.1	97.6	47.4	97.3	70.6	86.0
Spinosad A	108	72.7	82.7	53.2	70.6	81.1	69.4	77.9	77.5	67.6	70.3	70.3
Terbutylazine	37.8	51.1	61.5	39.0	41.0	83.1	50.9	67.6	32.3	50.0	54.2	81.3
Thiabendazole	75.3	66.9	76.5	87.4	98.6	101	90.5	111	67.6	85.5	n/a	74.5
Thiachlopride	31.1	46.8	41.5	39.4	33.2	95.4	33.1	54.7	32.2	47.6	30.5	60.2
Thiametoxam	34.4	65.2	44.3	24.5	52.9	50.4	41.1	61.2	29.8	72.7	30.9	75.3
Trifloxistobine	31.5	33.3	48.6	102	29.4	53.8	31.7	42.4	25.9	31.4	29.9	51.2
Trimethoprim	66.9	26.7	102	71.0	78.4	70.7	88.0	59.8	67.3	56.5	65.4	66.4
Average recovery	48.9	61.8	66.2	62.8	56.1	73.8	58.4	69.3	48.2	64.3	51.6	67.7

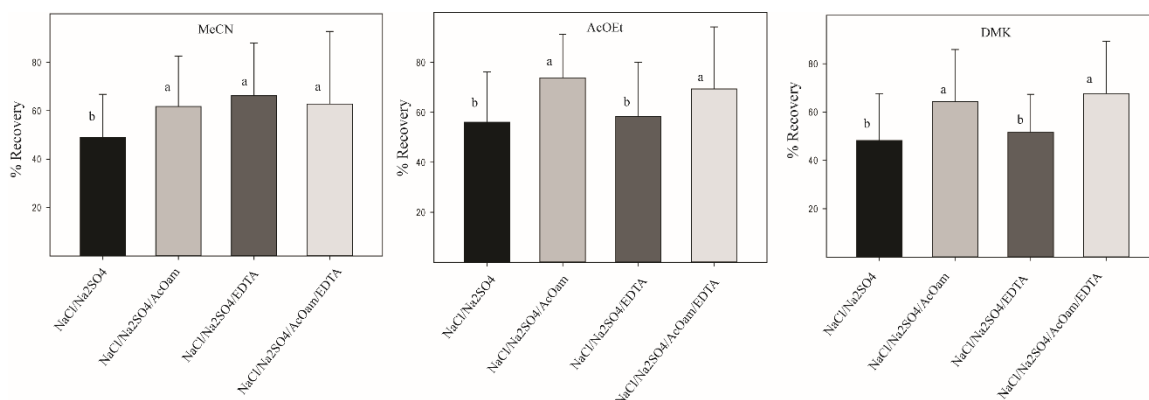


Figure 7-2: Average on 70 TrOCs percentage recovery for solvent and salt variation in sludge (spike = 100 ng/g, n=3) (A: NaCl/Na2SO4, B: NaCl/ Na2SO4 /AcOam, C: NaCl/ Na2SO4/EDTA/ D: NaCl/ Na2SO4 /AcOam/EDTA). Similar letters indicated no statistical difference using Holm-Sidak, one way ANOVA ($P > 0.05$).

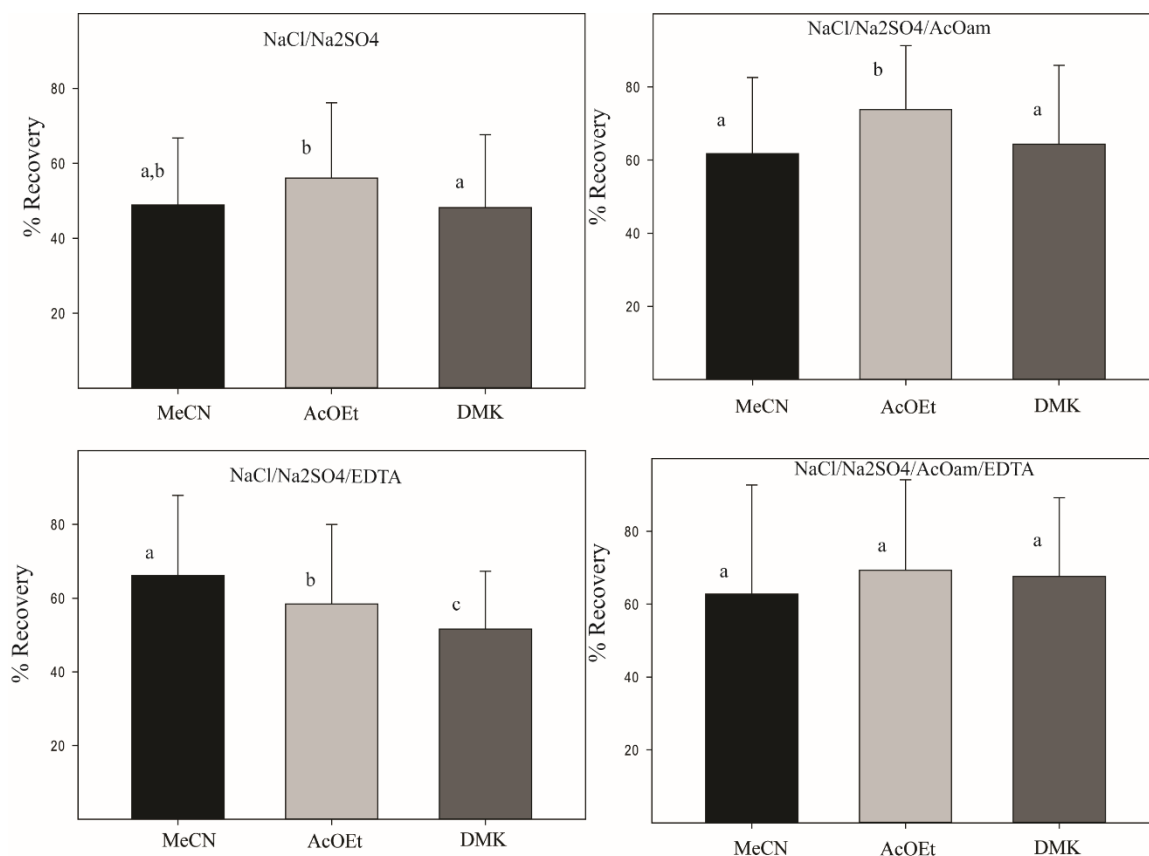


Figure 7-3: Average on 70 TrOCs percentage recovery for solvent and salt variation in sludge (spike = 100 ng/g, n=3) (A: NaCl/Na2SO4, B: NaCl/ Na2SO4 /AcOam, C: NaCl/ Na2SO4/EDTA/ D: NaCl/ Na2SO4 /AcOam/EDTA).

Similar letters indicated no statistical difference using Holm-Sidak, one way ANOVA ($P > 0.05$).

Table 7-13: Percentage recovery for the variation volume in sludge ((n=3) spike = 100 ng/g).

Analytes	AcOet-H2O							
	R1 (1-4)	SD	R2 (4-4)	SD	R3 (4-1)	SD	R4 (1-1)	SD
1-naphthol	40.2	0.85	43.2	1.13	69.0	4.53	40.8	0.57
Acetaminiphen	26.6	1.98	42.2	4.24	102	2.69	30.6	0.85
Acetamiprid	33.2	1.70	40.0	0.57	54.6	9.05	35.8	1.41
Aldicarb-sulfone	35.6	2.26	53.8	0.28	50.9	1.41	52.0	1.54
Atrazine	31.6	2.26	28.4	1.70	112	1.90	38.0	13.6
Azinphos-Methyl	28.4	3.39	36.8	2.26	56.2	4.81	35.8	0.28
Bendiocarb	44.0	0.57	49.8	1.41	97.6	5.09	46.2	1.41
Bentazone	28.6	4.81	58.0	2.83	79.9	2.26	38.8	8.49
Bezaflubutol	27.0	0.85	32.4	1.79	118	1.13	25.4	0.85
Boscalid	28.6	1.98	33.0	1.98	45.5	0.85	29.2	2.83
Caffeine	30.4	2.26	62.6	3.11	81.6	11.3	49.6	5.69
Carbamazepine	40.4	1.13	48.2	3.68	70.6	5.37	41.4	4.81
Carbaryl	40.4	0.57	44.6	0.28	61.4	5.37	41.2	2.83
Carbendazim	49.6	7.92	56.0	3.39	76.6	7.92	75.2	9.05
Carbofuran	40.6	1.41	47.8	0.28	80.5	5.09	43.2	2.83
Chlufenvinphos	26.6	0.85	29.2	0.57	60.0	3.11	28.4	1.13
Chlorotoluron	40.6	1.41	44.6	1.41	67.2	3.96	39.8	1.41
Chlorpyrifos	22.6	0.85	22.2	0.28	83.0	2.26	22.4	2.83
Chlortianidine	41.2	1.13	54.0	1.71	44.1	0.57	51.6	3.96
Coumaphos	24.2	0.28	25.2	0.57	51.2	3.68	23.6	1.57
Cyanazine	41.2	2.26	46.0	2.26	58.9	4.24	43.6	3.96
Cyclophosphamide	32.4	0.57	38.2	0.28	48.4	2.26	37.4	2.55
Diazinon	29.0	0.28	30.8	1.73	70.2	3.96	33.8	3.11
Dimethoate	35.4	0.85	41.8	0.28	87.0	5.37	38.4	1.57
Dinotefuran	24.4	0.57	36.0	0.57	74.6	2.26	35.8	0.85
Diuron	35.2	1.13	37.8	0.28	71.6	4.24	36.2	1.98
Fenofibrate	26.4	2.26	28.4	6.22	72.9	7.35	21.0	1.41
Fludioxonil	85.6	5.46	124	5.17	71.5	3.39	83.0	1.41
Hexazinon	41.2	0.57	49.2	0.57	73.5	7.35	47.0	2.55
Ibuprofen	49.6	17.5	28.0	11.3	78.4	3.69	55.4	1.98
Imazethapyr	n/a	n/a	22.4	3.21	71.3	16.4	n/a	n/a
Imidaclopride	38.6	0.28	48.6	1.98	47.4	2.26	48.4	5.66
Indometacin	25.4	0.28	27.8	0.85	60.6	1.54	25.2	1.13
Isoproturon	42.4	1.70	50.4	2.36	75.6	2.83	46.6	4.24
Ketoprofen	32.4	0.57	36.4	1.24	76.2	4.24	32.0	1.27
Kresoxim Methyl	26.4	1.13	27.4	4.81	56.1	2.83	25.6	0.57
Linuron	33.0	0.28	34.8	5.36	53.3	9.97	35.4	3.68
Malathion	36.6	1.41	40.2	0.85	76.9	6.22	38.0	2.83
Mefenamic Acid	26.2	0.28	28.6	1.41	105	1.13	25.8	0.85
Methylbenzuron	39.6	0.57	44.2	1.41	64.3	4.81	40.6	3.11
Metobromuron	38.4	0.57	43.8	1.41	83.0	3.39	35.6	8.64
Metolachlor	n/a	n/a	32.4	17.5	81.3	0.57	26.4	8.49
Metoxuron	40.0	0.57	46.8	0.57	76.7	5.09	43.8	1.41
Monolinuron	40.0	1.70	42.2	0.28	87.2	2.26	39.4	1.98
Naproxen	34.0	6.22	35.2	0.57	115	5.37	33.4	2.28
Nitenpyram	n/a	n/a	26.0	1.70	73.8	5.94	n/a	n/a
Omethoate	22.4	2.01	30.8	1.13	94.2	5.39	32.6	3.85
Pendimethalin	22.8	1.70	23.4	1.41	51.2	1.98	n/a	n/a
Peperonil Butoxide	27.8	0.28	30.0	1.13	72.3	1.98	27.0	0.85
Pyraclostrobin	25.6	0.57	26.0	1.13	76.5	1.72	24.6	1.87
Pyrimethanil	37.0	0.28	42.4	5.09	72.7	2.83	36.8	1.54
Sebutylazine	30.8	0.57	31.6	1.13	69.8	5.37	30.4	1.58
Simazine	40.6	1.41	46.4	1.13	82.3	8.77	43.0	1.98
Spinosad A	28.2	8.77	43.4	20.1	81.1	9.62	23.8	4.81
Terbutylazine	29.4	0.85	30.4	1.70	83.1	2.55	28.8	1.71
Thiabendazole	38.8	2.26	50.8	2.83	101	7.07	45.0	2.55
Thiachlopride	38.8	0.57	42.8	1.13	95.4	2.26	41.2	3.96
Thiametoxam	34.6	0.85	49.4	4.24	50.4	3.39	45.8	3.68
Trifloxystrobin	24.2	0.28	24.4	2.89	53.8	1.13	23.4	0.28
Trimethoprim	24.8	2.36	37.0	6.51	70.7	15.3	37.2	1.13
Average recovery	37.3	1.90	40.1	2.65	73.8	4.51	37.8	2.91

Table 7-14: Percentage recovery for the tested purification ((n=3) spiked sludge = 100 ng/g).

Analytes	C ₁₈ /Na ₂ SO ₄			C ₁₈ /MgSO ₄			C ₁₈ /Alumina		
	50-200	100-150	200-50	50-200	100-150	200-50	50-200	100-150	200-50
1-naphthol	90.8	47.2	48.2	52.8	47.6	41.0	48.6	28.6	25.8
Acetaminiphen	96.0	40.6	43.0	35.4	34.6	39.4	32.0	12.0	13.4
Acetamidrid	102	46.0	44.4	51.2	42.8	42.6	50.0	30.0	26.2
Aldicarb-sulfone	93.2	57.2	54.2	57.6	53.0	45.2	51.6	31.6	31.8
Atrazine	101	32.8	26.4	29.6	28.4	28.4	33.0	13.0	9.60
Azinphos-Methyl	110	35.6	31.6	33.4	32.2	32.6	36.4	16.4	17.0
Bendiocarb	82.6	50.8	49.6	55.4	49.0	44.4	51.6	31.6	30.4
Bentazone	89.0	56.8	55.8	55.2	51.8	45.4	57.0	37.0	28.6
Bezaflubate	93.4	33.8	33.2	35.8	28.8	27.8	34.8	14.8	12.0
Boscalid	106	37.0	40.2	38.0	35.6	34.0	34.4	14.4	17.4
Caffeine	74.6	58.6	53.8	67.6	52.2	52.4	58.4	38.4	26.8
Carbamazepine	82.8	46.6	47.8	51.0	47.0	42.4	48.4	28.4	24.8
Carbaryl	86.6	45.8	45.8	51.2	46.4	41.4	46.0	26.0	26.4
Carbendazim	83.0	67.8	63.4	31.0	40.2	46.0	46.2	26.2	25.2
Carbofuran	99.4	49.6	48.4	54.0	47.6	43.0	49.4	29.4	27.2
Chlofenvinphos	99.6	37.0	39.0	40.6	35.8	34.2	36.8	16.8	17.8
Chlorotoluron	69.6	44.6	43.0	50.2	42.2	40.0	46.6	26.6	23.8
Chlorpyrifos	78.8	24.8	22.2	23.0	23.6	23.8	22.0	20.0	6.60
Chlotianidine	105	54.4	54.0	59.4	51.2	45.8	52.8	32.8	28.2
Coumaphos	97.4	29.6	31.0	29.8	28.4	27.2	27.8	7.80	9.60
Cyanazine	94.6	48.4	48.2	50.6	45.4	39.6	47.4	27.4	24.2
Cyclophosphamide	106	39.8	38.0	36.4	37.4	37.0	41.2	21.2	17.8
Diazinon	96.2	56.8	45.4	46.6	51.2	43.2	53.6	33.6	33.6
Dimethoate	97.4	37.8	38.4	41.2	38.0	35.6	38.6	18.6	16.8
Dinotefuran	100	48.6	45.8	53.6	48.0	38.4	52.4	32.4	28.0
Diuron	50.8	42.2	42.0	45.6	40.4	36.8	43.6	23.6	20.0
Fenofibrate	85.0	43.8	28.4	26.2	30.0	27.8	27.4	7.40	12.4
Fludioxonil	66.2	69.6	68.6	66.6	68.4	40.0	41.4	21.4	21.0
Hexazinon	80.8	52.6	49.8	55.6	49.6	43.4	52.4	32.4	27.2
Ibuprofen	42.4	40.6	64.4	105	45.0	62.8	54.4	34.4	32.0
Imazethapyr	103	22.8	22.2	23.8	22.2	22.2	23.2	13.2	12.4
Imidaclopride	105	54.6	50.4	54.6	49.4	43.4	50.6	30.6	27.6
Indometacine	94.8	33.2	39.8	33.4	32.4	33.0	33.4	13.4	13.8
Isoproturon	97.2	49.8	52.6	59.2	50.6	44.8	54.0	34.0	29.4
Ketoprofen	96.4	40.2	43.6	44.2	42.0	38.4	48.2	28.2	23.6
Kresoxim Methyl	96.2	36.4	36.2	33.4	32.8	33.8	32.4	12.4	15.2
Linuron	101	42.0	39.8	44.8	42.4	39.8	43.4	23.4	29.2
Malathion	96.2	43.8	46.8	46.0	41.4	37.4	47.2	27.2	23.2
Mefenamic Acid	91.2	28.6	29.8	28.4	27.0	27.6	26.8	6.80	10.4
Methylbenzuron	105	45.0	43.6	48.8	41.2	38.6	46.2	26.2	24.0
Metobromuron	94.0	39.6	42.2	47.4	43.2	40.6	43.0	23.0	21.6
Metolachlor	89.4	30.6	28.0	26.6	25.4	23.2	28.2	8.20	9.20
Metoxuron	91.4	50.8	49.2	56.0	48.8	44.2	49.6	29.6	28.8
Monolinuron	96.8	49.0	47.0	54.4	46.4	42.6	47.6	27.6	25.4
Naproxen	93.6	48.6	31.6	43.4	28.4	30.0	42.8	22.8	21.6
Nitenpyram	106	30.6	25.8	33.0	29.8	29.0	25.8	5.80	4.00
Omethoate	94.2	48.4	45.0	47.6	41.6	40.4	44.8	24.8	24.2
Pendimethalin	103	23.4	25.0	23.2	23.4	24.4	23.2	3.20	5.40
Peperonil Butoxide	104	31.6	32.6	30.8	30.4	30.0	30.4	10.4	13.4
Pyraclostrobine	102	27.6	29.2	28.2	27.2	27.8	27.8	7.80	10.0
Pyrimethanil	101	39.2	40.6	40.8	39.0	35.4	39.6	19.6	19.4
Sebutylazine	97.4	35.8	37.4	35.8	34.8	33.0	35.0	15.0	17.2
Simazine	91.6	51.0	49.6	52.0	47.6	40.6	48.6	28.6	27.8
Spinosad A	108	28.8	26.2	36.2	31.0	24.8	29.2	9.20	3.80
Terbutylazine	89.2	34.4	35.2	31.2	32.6	31.4	32.4	12.4	15.0
Thiabendazole	107	57.8	51.6	47.2	42.2	43.0	53.6	33.6	21.0
Thiachlopride	96.2	37.0	36.0	38.0	35.2	33.2	36.4	16.4	16.0
Thiametoxam	104	48.0	49.2	53.4	47.6	43.2	49.8	29.8	26.0
Trifloxistrobine	115	24.6	26.2	25.0	26.0	27.0	25.6	5.60	8.20
Trimethoprim	99.0	48.4	44.0	31.6	39.6	38.6	45.2	25.2	16.6
Average recovery	93.8	42.6	41.7	43.8	39.6	37.1	41.3	21.8	20.1

Table 7-15: Percentage recovery for the mass variation ((n=3) spiked sludge = 100 ng/g).

Analytes	0.25 g (%)	SD	0.5 g (%)	SD	1 g (%)	SD
1-naphthol	90.8	0.28	38.0	0.42	31.0	0.64
Acetaminiphen	96.0	0.42	27.0	2.14	40.0	16.6
Acetamiprid	102	0.64	58.0	0.42	37.4	2.47
Aldicarb-sulfone	93.2	0.85	69.6	1.27	34.2	3.61
Atrazine	101	0.57	40.0	0.42	24.4	0.42
Azinphos-Methyl	110	0.21	21.2	0.99	14.0	1.84
Bendiocarb	82.6	0.71	62.4	0.85	44.4	2.26
Bentazone	89.0	3.68	89.0	2.47	41.6	4.53
Bezafibrate	93.4	0.35	47.2	1.41	23.6	0.99
Boscalid	106	0.99	33.8	1.91	27.4	0.78
Caffeine	74.6	0.92	91.2	0.71	32.2	15.4
Carbamazepine	82.8	1.06	39.6	0.92	25.0	1.06
Carbaryl	86.6	0.92	39.8	0.78	30.6	0.21
Carbendazim	83.0	1.56	73.0	2.12	22.8	16.9
Carbofuran	99.4	0.28	59.6	0.85	41.0	2.19
Chlofenvinphos	99.6	1.47	27.0	1.06	24.0	0.99
Chlorotoluron	69.6	0.71	41.4	0.78	31.2	0.99
Chlorpyrifos	78.8	2.33	7.60	0.42	4.60	0.35
Chlotianidine	105	1.41	65.8	1.77	47.4	4.45
Coumaphos	97.4	0.21	21.4	0.49	16.6	1.77
Cyanazine	94.6	0.35	58.6	1.20	40.8	0.99
Cyclophosphamide	106	0.35	41.0	2.78	27.6	1.98
Diazinon	96.2	1.48	48.0	1.27	38.8	2.12
Dimethoate	97.4	0.71	65.6	0.85	43.4	4.03
Dinotefuran	100	0.92	63.8	1.77	31.4	5.59
Diuron	50.8	1.23	36.8	0.99	28.4	1.13
Fenofibrate	85.0	5.30	16.4	1.41	14.0	0.28
Fludioxonil	66.2	0.42	67.0	4.17	63.0	0.64
Hexazinon	80.8	0.28	58.8	0.71	38.2	3.32
Ibuprofen	42.4	6.01	24.6	11.6	14.4	3.39
Imazethapyr	103	0.21	20.4	0.57	6.20	0.78
Imidaclopride	105	1.84	69.6	1.70	47.2	5.80
Indometacine	94.8	0.92	28.8	1.84	22.8	2.12
Isoproturon	97.2	0.57	53.6	0.71	38.2	0.92
Ketoprofen	96.4	1.13	32.8	0.71	28.6	0.21
Kresoxim Methyl	96.2	0.21	19.6	0.99	20.6	2.05
Linuron	101	0.92	50.0	0.57	44.6	1.48
Malathion	96.2	0.28	46.4	0.71	39.6	0.42
Mefenamic Acid	91.2	0.85	17.2	0.42	13.4	0.64
Methylbenzuron	105	3.00	61.6	0.99	46.0	0.99
Metobromuron	94.0	1.70	45.8	0.78	30.6	1.63
Metolachlor	89.4	0.14	42.4	1.13	30.2	1.25
Metoxuron	91.4	0.99	51.6	1.27	35.2	1.98
Monolinuron	96.8	0.49	50.4	0.42	39.6	0.99
Naproxen	93.6	2.55	46.8	1.20	32.8	2.12
Nitenpyram	106	1.34	18.8	0.71	9.20	1.13
Omethoate	94.2	2.40	69.4	1.48	32.0	5.66
Pendilethaline	103	0.14	7.20	0.99	6.80	0.71
Peperonil Butoxide	104	0.28	15.6	0.42	12.4	0.85
Pyraclostrobine	102	0.28	15.0	3.17	12.2	0.92
Pyrimethanil	101	1.27	28.4	2.00	19.0	0.78
Sebuthylazine	97.4	1.27	24.6	0.92	17.2	0.99
Simazine	91.6	0.99	52.2	1.07	37.8	0.92
Spinosad A	108	1.06	55.2	1.27	49.0	0.49
Terbuthylazine	89.2	3.07	20.2	0.49	14.2	0.92
Thiabendazole	107	0.42	73.4	0.49	55.6	8.63
Thiachlopride	96.2	0.35	45.2	0.57	31.8	0.78
Thiametoxam	104	0.78	51.6	0.14	29.2	3.25
Trifloxistrobine	115	0.14	7.80	0.21	7.40	0.78
Trimethoprim	99.0	0.64	48.6	1.98	27.8	5.66
Average recovery	93.1	1.11	43.4	1.31	29.5	2.62

Table 7-16: Method performances for sediment and benthic organism samples: accuracy and precision (n=3).

Sediment: A: Massawipi. B: Montjoie. / Organisms: A: Chironomidae. B: Oligochaeta

Analytes	Accuracy (%)												Precision (%)											
	Sediment						Benthic organisms						Sediment						Benthic organisms					
	A			B			A			B			A			B			A			B		
	5	25	100	5	25	100	5	25	100	5	25	100	5	25	100	5	25	100	5	25	100	5	25	100
1-naphthol	94.4	79.3	116	97.2	106	108	80.6	62.0	88.4	83.3	77.3	90.4	20.9	17.0	14.1	9.62	19.7	3.11	9.90	3.46	1.70	8.33	10.0	0.57
Acetaminophen	86.1	85.3	100	105	96.7	109	97.2	103	92	100	101	107	13.1	14.8	4.81	12.8	8.08	9.03	12.1	11.0	14.1	11.3	11.2	8.20
Acetamiprid	97.2	85.3	123	94.4	110	111	86.1	101	106	85.8	91.3	106	19.2	20.1	11.0	4.81	19.2	0.28	9.50	3.06	1.41	10.2	19.6	18.1
Aldicarb-sulfone	66.7	76.7	99.4	66.7	96.0	104	119	87.3	106	47.2	86.7	95.2	16.6	8.02	5.94	14.4	13.1	0.85	11.4	7.02	8.77	12.7	6.11	0.57
Atrazine	88.9	79.3	121	122	100	101	55.6	60.7	105	44.4	81.3	106	19.2	20.0	11.3	8.13	16.2	5.37	13.6	16.0	5.09	10.8	2.31	5.66
Azinphos-Methyl	103	47.3	104	41.7	53.3	100	91.7	98.7	112	111	76.7	97.6	12.2	3.00	11.6	12.1	7.02	17.7	13.5	20.0	5.94	19.2	12.2	15.8
Bendiocarb	97.2	76.7	125	108	103	109	108	109	126	91.7	128	116	19.2	20.0	2.55	10.8	15.5	6.22	16.6	17.4	7.35	13.0	10.0	1.98
Bentazone	61.1	48.7	104	58.3	56.0	97.4	105	108	111	30.6	34.7	93.8	7.77	17.8	13.8	13.1	5.29	8.77	19.8	1.15	4.81	11.4	5.03	0.28
Bezaflubate	58.3	74.0	104	88.9	92.0	106	38.9	55.3	24.4	58.3	56.0	83.4	8.33	15.6	15.5	17.3	8.72	3.11	12.7	1.15	4.53	11.6	2.00	3.68
Boscalid	63.9	68.0	118	52.8	100	108	95.8	30.0	105	72.2	66.0	101.4	20.9	16.8	1.41	14.8	19.2	9.33	14.8	9.17	5.30	16.1	14.2	4.81
Caffeine	94.4	74.7	98.4	97.2	98.0	95.8	88.9	148	107	89.7	98.0	107	12.3	18.2	12.4	17.3	17.3	4.24	12.9	6.00	5.94	19.2	19.0	3.11
Carbamazepine	n/a	46.7	113	n/a	70.0	109	n/a	10.7	89.8	n/a	24.0	95.8	n/a	17.4	19.2	n/a	9.17	1.70	n/a	3.06	7.64	n/a	6.00	1.98
Carbaryl	83.3	82.7	119	88.9	103	113	122	112	102	83.3	98.0	114	13.2	20.0	3.39	13.2	10.2	1.13	12.2	15.6	6.22	8.33	15.0	7.64
Carbendazim	88.9	73.3	104	108	102	106	119	108	125	105	126	107	4.81	20.0	9.33	8.33	10.3	0.28	17.3	4.16	5.09	13.3	2.00	0.28
Carbofuran	100	80.7	124	100	104	112	102	112	119	86.1	10	119	20.0	17.4	13.0	16.6	7.02	10.4	10.8	1.15	2.83	12.7	5.03	5.09
Chlofenvinphos	88.9	69.3	106	66.7	92.7	101	41.7	43.3	101	25.0	40.7	112	17.3	15.4	8.06	16.7	7.57	20.5	20.4	3.06	2.26	14.4	6.11	1.41
Chlorothalonil	100	71.3	131	86.1	100	126	94.4	96.7	116	52.8	102	121	8.33	19.4	9.62	19.3	10.3	2.55	19.2	5.03	3.39	12.7	5.80	3.39
Chlorpyrifos	103	66.7	n/a	27.8	99.3	n/a	44.4	16.0	n/a	16.7	34.0	n/a	7.16	16.4	n/a	4.81	14.1	n/a	18.0	12.1	n/a	10.3	19.8	n/a
Chlortolazine	69.4	63.3	108	27.8	112	112	69.4	78.7	102	86.1	86.7	115	2.31	14.8	5.37	17.8	12.1	2.26	8.46	15.2	5.37	4.20	20.1	3.96
Coumaphos	104	86.0	101	105	87.3	111	22.2	17.3	67.2	27.8	30.0	49.8	20.4	12.0	20.0	1.98	9.02	11.8	12.7	2.31	8.49	12.1	16.0	5.94
Cyanazine	83.3	80.0	133	100	98.0	114	100	106	108	91.7	104	107	28.8	38.0	14.9	11.2	9.17	11.0	13.3	18.0	8.49	8.33	10.3	7.35
Cyclophosphamide	72.2	80.0	126	108	106	121	69.4	78.7	123	72.2	87.3	120	9.62	22.2	6.79	13.3	14.4	4.81	4.81	14.7	11.3	12.7	13.3	8.49
Diazinon	91.7	86.0	80.6	58.3	72.7	66.2	55.6	60.7	82.2	58.3	112	75	11.7	33.0	1.41	16.6	13.2	11.3	12.9	8.08	0.85	14.4	9.87	3.68
Dimethoate	86.1	128	126	138	103	123	102	106	107	128	106	121	3.45	50.4	9.62	4.81	14.0	6.22	12.9	8.72	0.57	4.81	13.0	6.21
Dinotefuran	86.1	87.3	102	69.4	102	108	100	123	103	83.3	92.7	113	17.3	12.4	11.0	4.59	8.20	5.94	8.33	16.7	12.1	11.7	9.87	18.5
Diuron	66.7	75.3	118	102	94.7	114	61.1	98.0	104	80.6	108	108	15.0	16.2	9.33	18.3	9.02	0.85	13.6	2.00	1.41	18.0	8.33	3.39
Fenofibrate	94.4	49.3	104	63.9	78.0	108	n/a	4.0	103	n/a	15.3	96.4	17.5	10.6	12.4	19.2	17.6	15.5	n/a	4.00	0.57	n/a	4.16	0.57
Fludioxonil	13.9	32.0	99.6	27.8	45.3	69.8	5.6	28.0	49.2	0.0	14.7	76.6	17.3	12.1	16.4	4.81	8.08	17.8	4.81	16.0	0.57	3.02	15.5	4.81
Hexazinon	97.2	80.7	118	111	110	114	105	137	126	94.4	128	122	9.62	20.4	13.8	17.3	8.20	3.11	12.9	10.0	1.98	4.81	3.46	5.09
Ibuprofen	90.0	94.0	118	87.3	102	102	86.9	104	111	89.6	106	129	8.33	20.0	14.5	12.8	10.0	12.4	11.9	9.00	20.9	11.7	13.4	11.0
Imazethapyr	72.2	69.3	77.2	77.8	96.7	92.2	44.4	62.7	97.2	27.8	59.3	90.8	4.81	15.0	9.62	12.7	12.8	4.81	4.81	3.06	4.53	12.7	8.08	1.70
Imidacloprid	108	102	119	103	105	110	122	106	121	90.8	96.0	102	2.99	13.8	16.1	9.62	15.0	8.41	13.9	11.3	7.64	10.9	9.00	17.3
Indometacin	97.2	84.0	109	91.7	102	101	80.6	32.7	101	n/a	41.3	51.2	20.7	14.6	4.51	17.0	14.0	6.22	9.90	4.62	11.6	n/a	8.08	9.05
Isoproturon	100	77.3	120	105	102	116	69.4	86.0	103	61.1	93.3	107	16.7	15.2	4.81	9.62	15.6	7.89	12.7	3.46	0.28	9.62	4.16	5.37
Ketoprofen	91.7	68.7	111	83.3	100	112	n/a	51.0	88.8	41.7	42.7	90	17.7	17.9	12.7	16.6	8.08	2.26	n/a	12.7	1.13	8.47	9.45	2.26
Kresoxim Methyl	66.7	49.3	106	72.2	94.7	106	n/a	18.0	116	n/a	32.0	57.6	10.9	16.6	11.6	12.7	11.7	3.96	n/a	7.21	17.1	n/a	17.0	7.92
Linuron	72.2	62.7	91.2	94.4	60.7	91.8	38.9	54.7	59.4	72.2	66.0	92	12.7	20.0	9.05	10.9	13.3	16.6	15.7	7.57	2.55	9.90	17.3	14.1
Malathion	125	102	131	116	106	115	105	112	116	52.8	66.7	106	16.6	15.2	19.2	8.33	11.7	9.16	2.50	14.4	6.22	19.2	3.06	6.79
Mefenamic Acid	100	84.0	109	91.7	80.0	128	63.9	44.7	127	87.8	24.0	34.8	16.6	16.0	2.55	20.5	8.72	12.1	17.3	13.3	4.24	12.2	6.93	1.70
Methylbenzuron	66.7	68.7	115	72.2	92.0	109	102	112	108	83.3	102	100	20.4	20.0	12.7	12.7	15.1	5.09	10.7	7.57	14.4	16.6	12.4	7.98
Metolachlor	86.1	81.3	108	80.6	117	122	119	106	98.4	55.6	110	112	17.3	13.3	14.1	16.7	6.11	5.94	6.36	15.0	1.13	9.62	4.16	6.79
Metolachlor	100	89.3	129	113	107	118	102	74.0	112	75.0	106	123	10.8	11.0	13.8	15.4	8.02	10.1	11.2	5.29	7.92	10.8	8.80	1.70
Metoxuron	72.2	81.3	111	83.3	102	108	77.8	82.7	89.4	75.0	100	104	4.59	14.8	7.35	14.4	11.1	2.26	13.6	3.06	2.55	14.4	5.03	3.11
Monolinuron	66.7	78.0	128	83.3	70.7	114	122	126	109	69.4	122	102	11.6	18.3	14.7	16.6	12.0	6.80	14.7	17.0	5.37	12.7	16.0	11.8
Naproxen	88.6	58.7	103	94.4	49.3	66	96.7	n/a	124	88.8	66.0	108	16.5	19.4	19.9	14.7	14.8	16.0	10.0	n/a	10.7	12.1	16.4	15.2
Nitenpyram	86.9	98.0	118	87.3	103	107	95.0	102	91.2	97.2	102	121	5.48	17.2	21.7	5.83	12.0	5.09	11.0	16.4	16.9	14.0	17.5	4.24
Ometoate	77.8	72.7	118	105	106	110	75.0	91.3	107	61.1	86.7	121	4.81	18.0	10.4	12.7	4.00	9.05	14.4	8.33	8.77	9.62	12.8	6.24
Pendimethalin	52.8	51.3	109	47.2	68.7	103	89.4	50.0	100	45.8	40.7	101	4.81	10.0	8.77	12.5	12.4	20.0	10.7	4.00	0.57	12.8	10.0	9.24
Peperonil Butoxide	86.1	75.3	133	66.7	94.0	130	0.00	18.0	102	20.8	22.0	44.4	12.7	17.8	6.79	14.4	8.80	14.4	10.2	4.00	2.26	5.89	18.4	2.26
Pyraclostrobin	77.8	60.7	104	66.7	92.0	119	44.4	43.3	107	86.1	112	85.6	4.81	19.4	20.3	8.								

7.2 Appendix B

7.2.1 Informations supplémentaires du chapitre 4

Table 7-17: Description of the selected compounds.

Analytes	Formula	MWA (g/mol)	Log KOW	CAS number
1-Naphtol	C10H8O	144	2,85	90-15-3
Acetaminophen	C8H9NO2	151	0,46	103-90-2
Acetamiprid	C10H11ClN4	222	0,80	160430-64-8
Aldicarb	C7H14N2O2S	190	1,13	116-06-3
Aldicarb.sulfone	C7H14N2O4S	222	-0,57	1646-88-4
Aldicarb.sulfoxide	C7H14N2O3S	206	-0,78	1646-87-3
Atenolol	C14H22N2O3	266	0,16	29122-68-7
Atrazine	C8H14ClN5	215	2,61	1912-24-9
Azinphos-methyl	C10H12N3O3PS2	317	2,75	86-50-0
Bendiocarb	C11H13NO4	223	1,70	22781-23-3
Bentazon	C10H12N2O3S	240	2,34	25057-89-0
Bezafibrate	C19H20ClNO4	361	3,97	41859-67-0
Boscalid	C18H12Cl2N2O	343	2,96	188425-85-6
Caffeine	C8H10N4O2	194	-0,07	58-08-2
Carbamazepine	C15H12N2O	236	2,45	298-46-4
Carbaryl	C12H11NO2	201	2,36	63-25-2
Carbendazim	C9H9N3O2	191	1,52	10605-21-7
Carbofuran	C12H15NO3	221	2,32	1563-66-2
Chlorfenvinphos	C12H14Cl3O4P	359	3,81	470-90-6
Chlorpyrifos	C9H11Cl3NO3PS	350	4,96	2921-88-2
Chlortoluron	C10H13ClN2O	212	2,41	15545-48-9
Ciprofloxacin	C17H18FN3O3	331	0,28	85721-33-1
Clothianidin	C6H8ClN5O2S	249	0,70	210880-92-5
Coumaphos	C14H16ClO5PS	362	4,13	56-72-4
Cyanazine	C9H13ClN6	240	2,22	21725-46-2
Cyclophosphamide	C7H15Cl2N2O2P	261	0,63	50-18-0
Diazinon	C12H21N2O3PS	304	3,81	333-41-5
Dimethoate	C5H12NO3PS2	229	0,78	60-51-5
Dinotefuran	C7H14N4O3	202	-0,64	165252-70-0
Diuron	C9H10Cl2N2O	233	2,68	330-54-1
Fenofibrate	C20H21ClO4	360	5,19	49562-28-9
Fludioxonil	C12H6F2N2O2	248	4,12	13141-86-1
Hexazinone	C12H20N4O2	252	1,85	51235-04-2
Ibuprofen	C13H18O2	206	3,97	15687-27-1
Ifosfamid	C7H15Cl2N2O2P	261	0,86	3778-73-2
Imazethapyr	C15H19N3O3	289	1,49	81335-77-5
Imidacloprid	C9H10ClN5O2	255	0,57	138261-41-3
Indomethacin	C19H16ClNO4	357	4,27	53-86-1
Iprodione	C13H13Cl2N3O3	330	3,00	36734-19-7
Isoproturon	C12H18N2O	206	2,87	34123-59-6
ketoprofen	C16H14O3	254	3,12	22071-15-4
Kresoxim.Methyl	C18H19NO4	313	3,40	143390-89-0
Linuron	C9H10Cl2N2O2	249	3,20	330-55-2
Malathion	C10H19O6PS2	330	2,36	121-75-5
Mefenamic acid	C15H15NO2	241	5,12	61-68-7
Methibenzuron	C10H11N3OS	221	2,64	18691-97-9
Metobromuron	C9H11BrN2O2	259	2,38	3060-89-7
Metolachlor	C15H22ClNO2	283	3,13	87392-12-9
Metoxuron	C10H13ClN2O2	228	1,64	19937-59-8
Monolinuron	C9H11ClN2O2	214	2,30	1746-81-2
Naproxen	C14H14O3	230	3,18	22204-53-1
Nitenpyram	C11H15ClN4O2	270	-0,66	150824-47-8
Ofloxacin	C18H20FN3O4	361	-0,39	82419-36-1
Omethoate	C5H12NO4PS	213	-0,74	1113-02-6
Parathion	C10H14NO5PS	291	3,83	56-38-2
Pendimethalin	C13H19N3O4	281	5,18	40487-42-1
Permethrin	C21H20Cl2O3	391	6,50	52645-53-1
Phosmet	C11H12NO4PS2	317	2,78	732-11-6
Piperonyl.Butoxide	C19H30O5	338	4,75	51-03-6
Pyraclostrobin	C19H18ClN3O4	387	3,99	175013-18-0
Pyrimethanil	C12H13N3	199	2,84	53112-28-0
Sebuthylazin	C9H16ClN5	229	2,61	7286-69-3
Simazine	C7H12ClN5	201	2,18	122-34-9
Spinosad	C42H71NO9	734	4,00	168316-95-8
Terbutylazine	C9H16ClN5	229	3,21	5915-41-3
Thiabendazole	C10H7N3S	201	2,47	148-79-8
Thiacloprid	C10H9ClN4S	252	1,26	111988-49-9
Thiamethoxam	C8H10ClN5O3S	291	-0,13	153719-23-4
Trifloxystrobin	C20H19F3N2O4	408	4,50	141517-21-7
Trimethoprim	C14H18N4O3	290	0,91	738-70-5

Table 7-18: Geographical coordinates of sampling.

WWTPs	Region	Municipality	Administrative region	Geolocalization	
				N	W
Magog	Québec	Memphrémagog	Estrie	45.2575.79	72.1423.65
Granby	Québec	La haute-Yamaska	Montréal	45.37293.8	72.7751.29

Table 7-19: Parameters used for the determination of targeted compounds for the MS/MS analysis.

Analytes	Precursor ions		Fragment ion 1 : Quantification		Fragment ion 2 : Qualification	
	Precursor ion (m/z)	CT (V)	Product ion (m/z)	CE (V)	Product ion (m/z)	CE (V)
1-Naphtol	145	24	127	16	117	16
Acetaminophene	152	25	110	20	92.5	15
Acetamiprid	223	22	126	20	56	14
Aldicarb	191	10	116	4	89	12
Aldicarb-sulfone	223	20	86	14	148	8
Aldicarb-sulfoxide	207	14	132	6	89	12
Atenolol	267	30	190	25	154	20
Atrazine	216	24	96	24	104	28
Azinphos-methyl	317	10	132	14	125	18
Bendiocarb	224	14	109	16	167	8
Bentazon	239	34	132	24	197	20
Bezaflubate	362	25	316	25	138	15
Boscalid	343	28	307	20	140	20
Caféine	194	32	137	22	190	18
Carbamazepine	237	25	194	30	179	30
Carbaryl	202	14	145	10	127	26
Carbendazim	192	24	160	18	132	28
Carbofuran	222	18	123	22	165	12
Chlorfenvinphos	359	18	155	12	99	30
Chlorpyrifos	350	20	198	18	97	26
Chlortoluron	213	22	72	16	140	24
Ciprofloxacin	332	35	314	35	231	20
Clothianidin	250	16	132	16	169	12
Coumaphos	363	30	227	26	307	18
Cyanazine	241	24	214	16	104	28
Cyclophosphamide	260	35	139	20	105	20
Diazinon	305	20	169	20	153	20
Dimethoate	230	14	199	10	125	20
Dinotefuran	203	14	129	12	87	16
Diuron	233	18	72	18	160	26
Fenofibrate	361	30	273	15	233	15
Fludioxonil	247	42	126	30	169	34
Hexazinone	253	22	171	16	71	30
Ibuprofen	207	15	161	20	119	10
Imazethapyr	290	32	177	26	248	18
Imidacloprid	256	20	175	18	209	14
Indometacin	358	25	147	20	139	10
Iprodione	330	16	245	14	162	30
Isoproturon	207	22	72	18	134	22
Ketoprofen	255	25	177	25	105	20
Kresoxim-methyl	314	10	267	6	206	6
Linuron	249	22	160	16	182	16
Malathion	331	14	99	20	127	12
Mefenamic acid	242	20	224	40	180	15
Methibenzuron	222	16	165	16	150	32
Metobromuron	259	20	170	18	148	16
Metolachlor	284	20	252	16	176	26
Metoxuron	229	22	72	16	156	24
Monolinuron	215	20	126	16	148	16
Naproxen	231	20	185	45	115	10
Nitenpyram	271	18	56	26	225	14
Ofloxacin	362	30	318	30	261	20
O-Methoate	214	16	125	22	183	12
Parathion	292	18	236	14	94	38
Pendimethalin	282	12	212	10	194	18

Permethrin	408	12	183	8	355	16
Phosmet	318	14	160	14	133	38
Piperonyl butoxide	356	14	177	14	119	36
Pyraclostrobin	388	16	194	12	163	24
Pyrimethanil	200	36	107	24	82	24
Sebuthylazin	230	14	174	18	104	30
Simazine	202	26	132	18	124	18
Spinosad	732	34	142	26	98	58
Terbuthylazine	230	22	174	16	96	26
Thiabendazole	202	42	175	24	131	32
Thiacloprid	253	28	126	20	186	14
Thiametoxam	292	16	211	12	181	24
Trifloxystrobin	409	20	144	48	185	18
Trimethoprim	291	40	261	25	230	25

Table 7-20: The parameters used for PNEC calculation.

Compounds	EC50	Reference	Kd	Reference
Acetaminophene	42	[179]	2,6	[180]
Atenolol	30	[179]	8,1	[180]
Atrazine	1	[181]	N/A	N/A
Caffeine	46	[182]	199,5	[183]
Carbamazepine	111	[179]	14,12	[184]
Ibuprofene	38	[179]	125,8	[183]
Imidacloprid	0,034	[181]	N/A	N/A
Metalochlor	4,2	[181]	0,67	[181]
Naproxen	15	[179]	35,48	[184]
Trimethoprim	121	[185]	67,6	[184]
Carbendazim	0,086	[181]	N/A	N/A
Diuron	1,1	[181]	12,8	[181]

Table 7-21: The PNEC values for both effluent and biosolids.

Compounds	PNEC _{water}	MEC _{Granby}	MEC _{Magog}	PNEC _{biosolids}	MEC _{Granby}	MEC _{Magog}
	ug/L			ug/Kg		
Acetaminophene	42	0,023	0,130	109,2	127,2	14,60
Atenolol	30	0,033	N/A	243	3,030	N/A
Atrazine	1	0,043	N/A	N/A	5,800	N/A
Caffeine	46	0,136	0,313	9177	203,8	38,63
Carbamazepine	111	0,087	2,211	1567,32	11,48	16,13
Ibuprofene	38	0,097	N/A	4780,4	37,52	N/A
Imidacloprid	0,034	0,013	N/A	N/A	2,250	N/A
Metalochlor	4,2	0,032	N/A	2,814	4,860	N/A
Naproxen	15	0,068	2,979	532,2	20,75	13,28
Trimethoprim	121	0,012	0,414	8179,6	5,230	12,90
Carbendazim	0,086	N/A	4,020	N/A	N/A	209,8
Diuron	1,1	N/A	0,229	14,08	N/A	21,35

7.3 Appendix C

7.3.1 Supplementary information: Use of white rot fungi *Trametes hirsuta* and *Pleurotus dryinus* to reduce municipal biosolids volume and pharmaceutical compounds content

Sabrina Saibi¹, Lounès Haroune², Olivier Savary¹, Jean-Philippe Bellenger², Hubert Cabana^{1*}

¹Department of Civil and Building Engineering, Université de Sherbrooke, 2500 Boul. de l'Université, Sherbrooke, (Qc) J1K 2R1, Canada

²Department of Chemistry, Université de Sherbrooke, 2500 Boul. de l'Université, Sherbrooke, (Qc) J1K 2R1, Canada

* Address for correspondence:

Cabana Hubert, Eng. PhD
Department of Civil and Building Engineering, Université de Sherbrooke,
2500 boul. de l'Université, Sherbrooke, Québec, J1K 2R1, Canada
Tel: +1 (819) 821-8000, ext. 65457, Fax: +1 (819) 821-7974
Email: Hubert.Cabana@USherbrooke.ca

Table 7-22: Physicochemical characteristics of the biosolid Physicochemical characteristics of the biosolid

Parameters	Value	Unit
pH	7,37	-
Total organic carbon	30,5	%
Total nitrogen	5,20	%
C/N	5,86	-

7.3.1.1 Modified QuEChERS method:

Biosolid was transferred into a 50 mL falcon tube. 1 mL of acidic water (1% (v/v) formic acid) was added and samples were vortexed for 60 sec. 4 mL of ethyl acetate (1% formic acid) was added, and the solution was mixed until an emulsion formed (~ 60 sec). Then, 0.4 g of anhydride sodium sulfate, 0.1 g of sodium chloride and 0.4 g of ammonium acetate were added to the solution and immediately vortexed (60 sec) to avoid agglomeration of salt. The tubes were then centrifuged at 4300 xg for 20 min at 4°C. The organic layer (upper layer) was removed and evaporated to dryness under a gentle stream of N₂ at 40°C (thermostated sand bath). The extracts were then dissolved in 1 mL of 100% acetonitrile (1% (v/v) formic acid), vortexed and sonicated for 30 sec. The mixture was transferred into a 1.5 mL Eppendorf tube containing the clean-up phase (50 mg C₁₈/ 200 mg Na₂SO₄). The clean-up tube was swirled on a vortex mixer for 60 sec and centrifuged for 10 min at 20,050 xg at ambient temperature. Samples were evaporated to dryness and then reconstituted in 1 mL of a water/methanol mixture (1:1; v/v). Finally, solutions were filtered through a 0.2 µm PTFE filter syringe and analyzed by mass spectrometry (LC-MS/MS).

Table 7-23: Mass spectrometry parameters used for the quantification of the selected PhACs.

Active Substance	Transition 1 : Quantification			Transition 2 : Qualification		
	Parent > T1 (m/z)	Cone (V)	Coll (V)	Parent > T2 (m/z)	Coll (V)	Dwell time (S)
Acetaminophen	151.90 > 109.93	25	20	151.90 > 92.700	15	0.016
Naproxen	231.10 > 185.10	20	45	231.10 > 115.00	10	0.013
Menfenamic Acid	242.10 > 224.10	20	40	242.10 > 180.10	15	0.025
Ketoprofen	255.10 > 105.00	25	25	255.10 > 177.10	20	0.013
Indometacine	358.20 > 139.00	25	45	358.20 > 174.20	20	0.013
Carbamazepine	237.13 > 194.10	25	35	237.13 > 179.05	30	0.025
Caffeine	194.98 > 137.98	35	25	194.98 > 109.95	20	0.016

Table 7-24: Kinetics of PhAC elimination by *T. hirsuta* and *P. dryinus* (SD* < 5%)

Fungal strains	Biosolids concentration	Time course (days)	Removal (%)					
			Acetaminophen	Mefenamic acid	Naproxen	Ketoprofen	Carbamazepine	Caffeine
<i>T. hirsuta</i>	12% biosolids	5	59,1	82,9	84,1	17,0	0,00	0,00
		15	97,1	94,3	95,0	87,4	0,00	0,00
		20	99,3	98,1	99,0	94,6	0,00	0,00
		35	99,7	98,1	97,8	94,6	19,9	0,00
	25% biosolids	5	20,9	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
		15	72,9	60,2	50,2	45,8	0,00	0,00
		20	98,2	88,2	80,2	56,8	0,00	0,00
		35	99,1	91,6	92,0	52,3	50,6	60,1
<i>P. dryinus</i>	12% biosolids	5	91,6	43,1	1,5	0,00	0,00	0,00
		15	94,7	89,5	88,0	7,00	0,00	0,00
		20	99,2	98,1	96,1	95,5	0,00	0,00
		35	100	100	100	96,8	21,8	0,00
	25% biosolids	5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
		15	0,00	0,00	4,83	0,00	0,00	0,00
		20	97,4	1,38	65,2	66,8	0,00	0,00
		35	100	19,9	100	100	14,1	0,00

*Standard deviation

Table 7-25: Kinetics of laccase production by *T. hirsuta* and *P. dryinus* (SD* < 5%)

Time course (days)	Laccase activity for <i>T. hirsuta</i> (U/L)		Laccase activity for <i>P. dryinus</i> (U/L)	
	12% biosolids	25% biosolids	12% biosolids	25% biosolids
0	0,00	0,00	0,00	0,00
5	133	35,5	0,00	0,00
15	116	29,4	85,5	0,00
20	104	26,1	91,3	13,1
35	82,0	62,5	26,0	40,5

*Standard deviation

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] T. Nawaz, S. Sengupta, Chapter 4 - Contaminants of Emerging Concern: Occurrence, Fate, and Remediation, dans: S.B.T.-A. in W.P.T. Ahuja (Éd.), Elsevier, 2019: p. 67-114. doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814790-0.00004-1>.
- [2] C. canadien des ministres de l'environnement (CCME), Guide Pour La Valorisation Des Biosolides, 2012.
- [3] M. Hébert, Guide sur le recyclage des matières résiduelles fertilisantes: critères de référence et normes réglementaires, Québec, 2015. doi:[10.1017/CBO9781107415324.004](https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004).
- [4] Conseil Canadien des Ministres de l'Environnement (CCME), Un examen de l'actuel cadre législatif des biosolides municipaux au Canada, 2010.
- [5] A. Paris, Le bilan 2015, 2015.
- [6] B. Sarkar, S. Mandal, Y.F. Tsang, M. Vithanage, J.K. Biswas, H. Yi, X. Dou, Y.S. Ok, Sustainable sludge management by removing emerging contaminants from urban wastewater using carbon nanotubes, dans: M.N.V. Prasad, P.J. de Campos Favas, M. Vithanage, S.V. Mohan (Éd.), Ind. Munic. Sludge, Butterworth-Heinemann, 2019: p. 553-571. doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815907-1.00024-6>.
- [7] A. Białk-Bielińska, J. Kumirska, M. Borecka, M. Caban, M. Paszkiewicz, K. Pazdro, P. Stepnowski, Selected analytical challenges in the determination of pharmaceuticals in drinking/marine waters and soil/sediment samples, J. Pharm. Biomed. Anal. 121 (2016) 271-296. doi:[10.1016/j.jpba.2016.01.016](https://doi.org/10.1016/j.jpba.2016.01.016).
- [8] K.E. Murray, S.M. Thomas, A.A. Bodour, Prioritizing research for trace pollutants and emerging contaminants in the freshwater environment, Environ. Pollut. 158 (2010) 3462-3471. doi:[10.1016/j.envpol.2010.08.009](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2010.08.009).
- [9] W. McCance, O.A.H. Jones, M. Edwards, A. Surapaneni, S. Chadalavada, M. Currell, Contaminants of Emerging Concern as novel groundwater tracers for delineating wastewater impacts in urban and peri-urban areas, Water Res. 146 (2018) 118-133. doi:[10.1016/j.watres.2018.09.013](https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.09.013).
- [10] N.H. Tran, M. Reinhard, K.Y.H. Gin, Occurrence and fate of emerging contaminants in municipal wastewater treatment plants from different geographical regions-a review, Water Res. 133 (2018) 182-207. doi:[10.1016/j.watres.2017.12.029](https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.12.029).
- [11] P. Verlicchi, M. Al Aukidy, E. Zambello, Occurrence of pharmaceutical compounds in urban wastewater: Removal, mass load and environmental risk after a secondary treatment-A review, Sci. Total Environ. 429 (2012) 123-155. doi:[10.1016/j.scitotenv.2012.04.028](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.04.028).
- [12] M. Smol, J. Kulczycka, Z. Kowalski, Sewage sludge ash (SSA) from large and small

- incineration plants as a potential source of phosphorus – Polish case study, *J. Environ. Manage.* 184 (2016) 617-628. doi:10.1016/j.jenvman.2016.10.035.
- [13] M.C. Mew, Phosphate rock costs, prices and resources interaction, *Sci. Total Environ.* 542 (2016) 1008-1012. doi:10.1016/j.scitotenv.2015.08.045.
- [14] C.A. Kinney, E.T. Furlong, S.D. Zaugg, M.R. Burkhardt, S.L. Werner, J.D. Cahill, G.R. Jorgensen, Survey of organic wastewater contaminants in biosolids destined for land application, *Environ. Sci. Technol.* 40 (2006) 7207-7215. doi:10.1021/es0603406.
- [15] C.G. Pinto, M.E.F. Laespada, S.H. Martín, A.M.C. Ferreira, J.L.P. Pavón, B.M. Cordero, Simplified QuEChERS approach for the extraction of chlorinated compounds from soil samples, *Talanta*. 81 (2010) 385-391. doi:10.1016/j.talanta.2009.12.013.
- [16] X. Hu, Y. Luo, Q. Zhou, Simultaneous Analysis of Selected Typical Antibiotics in Manure by Microwave-Assisted Extraction and LC–MS n, *Chromatographia*. 71 (2010) 217-223. doi:10.1365/s10337-009-1438-8.
- [17] D. Gao, L. Du, J. Yang, W.M. Wu, H. Liang, A critical review of the application of white rot fungus to environmental pollution control, *Crit. Rev. Biotechnol.* 30 (2010) 70-77. doi:10.3109/07388550903427272.
- [18] Y. Zhang, S.U. Geißen, Elimination of carbamazepine in a non-sterile fungal bioreactor, *Bioresour. Technol.* 112 (2012) 221-227. doi:10.1016/j.biortech.2012.02.073.
- [19] A. Jelic, C. Cruz-Morató, E. Marco-Urrea, M. Sarrà, S. Perez, T. Vicent, M. Petrović, D. Barcelo, Degradation of carbamazepine by *Trametes versicolor* in an air pulsed fluidized bed bioreactor and identification of intermediates, *Water Res.* 46 (2012) 955-964. doi:10.1016/j.watres.2011.11.063.
- [20] H. Lee, Y. Jang, Y.-S. Choi, M.-J. Kim, J. Lee, H. Lee, J.-H. Hong, Y.M. Lee, G.-H. Kim, J.-J. Kim, Biotechnological procedures to select white rot fungi for the degradation of PAHs, *J. Microbiol. Methods*. 97 (2014) 56-62. doi:10.1016/J.MIMET.2013.12.007.
- [21] L. Haroune, S. Saibi, H. Cabana, J.P. Bellenger, Intracellular enzymes contribution to the biocatalytic removal of pharmaceuticals by *trametes hirsuta*, *Environ. Sci. Technol.* 51 (2017) 897-904. doi:10.1021/acs.est.6b04409.
- [22] H. Harms, D. Schlosser, L.Y. Wick, Untapped potential: exploiting fungi in bioremediation of hazardous chemicals, *Nat. Publ. Gr.* 9 (2011) 177-192. doi:10.1038/nrmicro2519.
- [23] J. Margot, J. Maillard, L. Rossi, D.A. Barry, C. Holliger, Influence of treatment conditions on the oxidation of micropollutants by *Trametes versicolor* laccase, *N. Biotechnol.* 30 (2013) 803-813. doi:10.1016/j.nbt.2013.06.004.
- [24] A.F. Ariste, R.A. Batista-García, V.K. Vaidyanathan, N. Raman, V.K. Vaithyanathan, J.L. Folch-Mallol, S.A. Jackson, A.D.W. Dobson, H. Cabana, Mycoremediation of

phenols and polycyclic aromatic hydrocarbons from a biorefinery wastewater and concomitant production of lignin modifying enzymes, *J. Clean. Prod.* (2020). doi:10.1016/j.jclepro.2019.119810.

- [25] <https://www.recyc-quebec.gouv.qc.ca>, (s. d.).
- [26] A. Jelić, M. Petrović, D. Barceló, Multi-residue method for trace level determination of pharmaceuticals in solid samples using pressurized liquid extraction followed by liquid chromatography/quadrupole-linear ion trap mass spectrometry, *Talanta*. 80 (2009) 363-371. doi:10.1016/j.talanta.2009.06.077.
- [27] L. Haroune, R. Cassoulet, M.P. Lafontaine, M. Bélisle, D. Garant, F. Pelletier, H. Cabana, J.P. Bellenger, Liquid chromatography-tandem mass spectrometry determination for multiclass pesticides from insect samples by microwave-assisted solvent extraction followed by a salt-out effect and micro-dispersion purification, *Anal. Chim. Acta*. 891 (2015) 160-170. doi:10.1016/j.aca.2015.07.031.
- [28] N. Montemurro, C. Postigo, S. Chirón, D. Barcelò, S. Pérez, Analysis and fate of 14 relevant wastewater-derived organic pollutants in long-term exposed soil, *Anal. Bioanal. Chem.* (2019) 2687-2696. doi:10.1007/s00216-019-01715-3.
- [29] P.K. Sarkar, P.K. Prajapati, V.J. Shukla, B. Ravishankar, A.K. Choudhary, Toxicity and recovery studies of two ayurvedic preparations of iron, *Indian J. Exp. Biol.* 47 (2009) 987-992. doi:10.1002/mas.
- [30] A. Berlioz-Barbier, A. Vauchez, L. Wiest, R. Baudot, E. Vulliet, C. Cren-Olivé, Multi-residue analysis of emerging pollutants in sediment using QuEChERS-based extraction followed by LC-MS/MS analysis, *Anal. Bioanal. Chem.* 406 (2014) 1259-1266. doi:10.1007/s00216-013-7450-8.
- [31] N. Dorival-García, A. Zafra-Gómez, F.J. Camino-Sánchez, A. Navalón, J.L. Vilchez, Analysis of quinolone antibiotic derivatives in sewage sludge samples by liquid chromatography-tandem mass spectrometry: Comparison of the efficiency of three extraction techniques, *Talanta*. 106 (2013) 104-118. doi:10.1016/j.talanta.2012.11.080.
- [32] Z. Zhao, X. Yang, X. Zhao, B. Bai, C. Yao, N. Liu, J. Wang, C. Zhou, Vortex-assisted dispersive liquid-liquid microextraction for the analysis of major *Aspergillus* and *Penicillium* mycotoxins in rice wine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *Food Control*. 73 (2016) 862-868. doi:10.1016/j.foodcont.2016.09.035.
- [33] J.L. Stevens, G.L. Northcott, G.A. Stern, G.T. Tomy, K.C. Jones, Pesticides , Synthetic Musks , and Polychlorinated n -Alkanes in U . K . Sewage Sludge : Survey Results and Implications, *Environ. Sci. Technol.* 37 (2003) 462-467.
- [34] K. Kimura, H. Hara, Y. Watanabe, Elimination of selected acidic pharmaceuticals from municipal wastewater by an activated sludge system and membrane bioreactors, *Environ. Sci. Technol.* 41 (2007) 3708-3714. doi:10.1021/es061684z.

- [35] A. Nieto, F. Borrull, E. Pocurull, R.M. Marcé, Pressurized liquid extraction of pharmaceuticals from sewage-sludge, *J. Sep. Sci.* 30 (2007) 979-984. doi:10.1002/jssc.200600360.
- [36] A.I. García-Valcárcel, J.L. Tadeo, A combination of ultrasonic assisted extraction with LC-MS/MS for the determination of organophosphorus pesticides in sludge, *Anal. Chim. Acta.* 641 (2009) 117-123. doi:10.1016/j.aca.2009.03.046.
- [37] J. Martín, J.L. Santos, I. Aparicio, E. Alonso, Multi-residue method for the analysis of pharmaceutical compounds in sewage sludge, compost and sediments by sonication-assisted extraction and LC determination, *J. Sep. Sci.* 33 (2010) 1760-1766. doi:10.1002/jssc.200900873.
- [38] V.G. Samaras, N.S. Thomaidis, A.S. Stasinakis, T.D. Lekkas, An analytical method for the simultaneous trace determination of acidic pharmaceuticals and phenolic endocrine disrupting chemicals in wastewater and sewage sludge by gas chromatography-mass spectrometry, *Anal. Bioanal. Chem.* 399 (2011) 2549-2561. doi:10.1007/s00216-010-4607-6.
- [39] W. Peysson, E. Vulliet, Determination of 136 pharmaceuticals and hormones in sewage sludge using quick, easy, cheap, effective, rugged and safe extraction followed by analysis with liquid chromatography-time-of-flight-mass spectrometry, *J. Chromatogr. A.* 1290 (2013) 46-61. doi:10.1016/j.chroma.2013.03.057.
- [40] A. Garcia-Rodríguez, E. Sagristà, V. Matamoros, C. Fontàs, M. Hidalgo, V. Salvadó, Determination of pharmaceutical compounds in sewage sludge using a standard addition method approach, *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 94 (2014) 1199-1209. doi:10.1080/03067319.2014.921292.
- [41] J. Kumirska, N. Migowska, M. Caban, P. Łukaszewicz, P. Stepnowski, Simultaneous determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs and oestrogenic hormones in environmental solid samples, *Sci. Total Environ.* 508 (2015) 498-505. doi:10.1016/j.scitotenv.2014.12.020.
- [42] B. Petrie, J. Youdan, R. Barden, B. Kasprzyk-Hordern, Multi-residue analysis of 90 emerging contaminants in liquid and solid environmental matrices by ultra-high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry, *J. Chromatogr. A.* 1431 (2015) 64-78. doi:10.1016/j.chroma.2015.12.036.
- [43] R. López-Serna, D. Marín-de-Jesús, R. Irusta-Mata, P.A. García-Encina, R. Lebrero, M. Fdez-Polanco, R. Muñoz, Multiresidue analytical method for pharmaceuticals and personal care products in sewage and sewage sludge by online direct immersion SPME on-fiber derivatization – GCMS, *Talanta.* 186 (2018) 506-512. doi:https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.04.099.
- [44] F.J. Anastassiades, Michelangelo; Lehotay, Steven J.; Štajnbaher, Darinka; Schenck, Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile Extraction/Partitioning and “Dispersive Solid-Phase Extraction” for the Determination of Pesticide Residues in

Produce, J. AOAC Int. 86 (2003).

- [45] M.B.R. Cerqueira, J.R. Guilherme, S.S. Caldas, M.L. Martins, R. Zanella, E.G. Primel, Evaluation of the QuEChERS method for the extraction of pharmaceuticals and personal care products from drinking-water treatment sludge with determination by UPLC-ESI-MS/MS, *Chemosphere*. 107 (2014) 74-82. doi:<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.03.026>.
- [46] L. Kim, D. Lee, H.K. Cho, S.D. Choi, Review of the QuEChERS method for the analysis of organic pollutants: Persistent organic pollutants, polycyclic aromatic hydrocarbons, and pharmaceuticals, *Trends Environ. Anal. Chem.* 22 (2019) e00063. doi:[10.1016/j.teac.2019.e00063](https://doi.org/10.1016/j.teac.2019.e00063).
- [47] S. Chu, R.J. Letcher, Determination of organophosphate flame retardants and plasticizers in lipid-rich matrices using dispersive solid-phase extraction as a sample cleanup step and ultra-high performance liquid chromatography with atmospheric pressure chemical ionization mass , *Anal. Chim. Acta*. 885 (2015) 183-190. doi:[10.1016/j.aca.2015.05.024](https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.05.024).
- [48] M.L. Martins, M. Kemmerich, O.D. Prestes, L. Maldaner, I.C.S.F. Jardim, R. Zanella, Evaluation of an alternative fluorinated sorbent for dispersive solid-phase extraction clean-up of the quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe method for pesticide residues analysis, *J. Chromatogr. A*. 1514 (2017) 36-43. doi:[10.1016/j.chroma.2017.07.080](https://doi.org/10.1016/j.chroma.2017.07.080).
- [49] W.A. Korfmacher, Principles and applications of LC–MS in new drug discovery, October. 10 (2005).
- [50] L.N. Nguyen, F.I. Hai, S. Yang, J. Kang, F.D.L. Leusch, F. Roddick, W.E. Price, L.D. Nghiem, Removal of trace organic contaminants by an MBR comprising a mixed culture of bacteria and white-rot fungi., *Bioresour. Technol.* 148 (2013) 234-41. doi:[10.1016/j.biortech.2013.08.142](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.08.142).
- [51] M.J. Gómez, M.J. Martínez Bueno, S. Lacorte, A.R. Fernández-Alba, A. Agüera, Pilot survey monitoring pharmaceuticals and related compounds in a sewage treatment plant located on the Mediterranean coast, *Chemosphere*. 66 (2007) 993-1002. doi:[10.1016/j.chemosphere.2006.07.051](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.07.051).
- [52] A. Ccanccapa, A. Masiá, A. Navarro-Ortega, Y. Picó, D. Barceló, Pesticides in the Ebro River basin: Occurrence and risk assessment, *Environ. Pollut.* 211 (2016) 414-424. doi:[10.1016/j.envpol.2015.12.059](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.12.059).
- [53] C. Nannou, A. Ofrydopoulou, E. Evgenidou, D. Heath, E. Heath, D. Lambropoulou, Antiviral drugs in aquatic environment and wastewater treatment plants: A review on occurrence, fate, removal and ecotoxicity, *Sci. Total Environ.* (2019) 134322. doi:[10.1016/j.scitotenv.2019.134322](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134322).
- [54] J. Wilkinson, P.S. Hooda, J. Barker, S. Barton, J. Swinden, Occurrence, fate and transformation of emerging contaminants in water: An overarching review of the field,

Environ. Pollut. 231 (2017) 954-970. doi:10.1016/j.envpol.2017.08.032.

- [55] P. Guerra, M. Kim, A. Shah, M. Alaei, S.A. Smyth, Occurrence and fate of antibiotic, analgesic/anti-inflammatory, and antifungal compounds in five wastewater treatment processes, *Sci. Total Environ.* 473-474 (2014) 235-243. doi:https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.12.008.
- [56] P.M. Palmer, L.R. Wilson, P. O'Keefe, R. Sheridan, T. King, C.-Y. Chen, Sources of pharmaceutical pollution in the New York City Watershed, *Sci. Total Environ.* 394 (2008) 90-102. doi:https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.01.011.
- [57] K.G. Karthikeyan, M.T. Meyer, Occurrence of antibiotics in wastewater treatment facilities in Wisconsin, USA, *Sci. Total Environ.* 361 (2006) 196-207. doi:https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2005.06.030.
- [58] M.L. Hedgespeth, Y. Sapozhnikova, P. Pennington, A. Clum, A. Fairey, E. Wirth, Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in treated wastewater discharges into Charleston Harbor, South Carolina, *Sci. Total Environ.* 437 (2012) 1-9. doi:https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.07.076.
- [59] S. Mohapatra, C.-H. Huang, S. Mukherji, L.P. Padhye, Occurrence and fate of pharmaceuticals in WWTPs in India and comparison with a similar study in the United States, *Chemosphere.* 159 (2016) 526-535. doi:https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.06.047.
- [60] H.-B. Lee, T.E. Peart, M.L. Svoboda, Determination of endocrine-disrupting phenols, acidic pharmaceuticals, and personal-care products in sewage by solid-phase extraction and gas chromatography–mass spectrometry, *J. Chromatogr. A.* 1094 (2005) 122-129. doi:https://doi.org/10.1016/j.chroma.2005.07.070.
- [61] L. Lishman, S.A. Smyth, K. Sarafin, S. Kleywegt, J. Toito, T. Peart, B. Lee, M. Servos, M. Beland, P. Seto, Occurrence and reductions of pharmaceuticals and personal care products and estrogens by municipal wastewater treatment plants in Ontario, Canada, *Sci. Total Environ.* 367 (2006) 544-558. doi:https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2006.03.021.
- [62] S.T. Glassmeyer, E.T. Furlong, D.W. Kolpin, J.D. Cahill, S.D. Zaugg, S.L. Werner, M.T. Meyer, D.D. Kryak, Transport of Chemical and Microbial Compounds from Known Wastewater Discharges: Potential for Use as Indicators of Human Fecal Contamination, *Environ. Sci. Technol.* 39 (2005) 5157-5169. doi:10.1021/es048120k.
- [63] X. Yang, R.C. Flowers, H.S. Weinberg, P.C. Singer, Occurrence and removal of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in an advanced wastewater reclamation plant, *Water Res.* 45 (2011) 5218-5228. doi:https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.07.026.
- [64] M. Köck-Schulmeyer, M. Villagrasa, M. López de Alda, R. Céspedes-Sánchez, F. Ventura, D. Barceló, Occurrence and behavior of pesticides in wastewater treatment plants and their environmental impact, *Sci. Total Environ.* 458-460 (2013) 466-476.

doi:10.1016/j.scitotenv.2013.04.010.

- [65] M.E. Valdés, M.V. Amé, M. de los A. Bistoni, D.A. Wunderlin, Occurrence and bioaccumulation of pharmaceuticals in a fish species inhabiting the Suquía River basin (Córdoba, Argentina), *Sci. Total Environ.* 472 (2014) 389-396. doi:<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.10.124>.
- [66] A.J. Ramirez, M.A. Mottaleb, B.W. Brooks, C.K. Chambliss, Analysis of Pharmaceuticals in Fish Using Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry, *Anal. Chem.* 79 (2007) 3155-3163. doi:10.1021/ac062215i.
- [67] J.N. Brown, N. Paxéus, L. Förlin, D.G.J. Larsson, Variations in bioconcentration of human pharmaceuticals from sewage effluents into fish blood plasma, *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 24 (2007) 267-274. doi:<https://doi.org/10.1016/j.etap.2007.06.005>.
- [68] K. Grabicova, R.H. Lindberg, M. Östman, R. Grabic, T. Randak, D.G. Joakim Larsson, J. Fick, Tissue-specific bioconcentration of antidepressants in fish exposed to effluent from a municipal sewage treatment plant, *Sci. Total Environ.* 488-489 (2014) 46-50. doi:<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.04.052>.
- [69] F. Gagné, C. Blaise, C. André, Occurrence of pharmaceutical products in a municipal effluent and toxicity to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes, *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 64 (2006) 329-336. doi:10.1016/j.ecoenv.2005.04.004.
- [70] K. Fent, A. a. Weston, D. Caminada, Ecotoxicology of human pharmaceuticals, *Aquat. Toxicol.* 76 (2006) 122-159. doi:10.1016/j.aquatox.2005.09.009.
- [71] N.H. Tran, T. Urase, O. Kusakabe, Biodegradation characteristics of pharmaceutical substances by whole fungal culture *Trametes versicolor* and its laccase, *J. Water Environ. Technol.* 8 (2010) 125-140. doi:10.2965/jwet.2010.125.
- [72] K Kümmerer, *Pharmaceuticals in the environment: sources, fate, effects and risks*, 2008.
- [73] T.L. Jones-Lepp, R. Stevens, Pharmaceuticals and personal care products in biosolids/sewage sludge: The interface between analytical chemistry and regulation, *Anal. Bioanal. Chem.* 387 (2007) 1173-1183. doi:10.1007/s00216-006-0942-z.
- [74] M.M. Roy, A. Dutta, K. Corscadden, P. Havard, L. Dickie, Review of biosolids management options and co-incineration of a biosolid-derived fuel, *Waste Manag.* 31 (2011) 2228-2235. doi:10.1016/j.wasman.2011.06.008.
- [75] C. Villeneuve, P.-L. Dessureault, Biosolides municipaux - quelle est la meilleure option pour le climat?, *Vecteur Environ.* 44 (2011) 8-12.
- [76] I. Durán Merás, A. Muñoz de la Peña, F. Salinas López, M.I. Rodríguez Cáceres, Complexation of antibacterial quinolonic acid and cinolonic derivatives with Zn(II) and Al(III): application to their determination in human urine., *Analyst.* 125 (2000) 1471-6. doi:10.1039/b002512g.

- [77] K. McClellan, R.U. Halden, Pharmaceuticals and personal care products in archived U.S. biosolids from the 2001 EPA national sewage sludge survey, *Water Res.* 44 (2010) 658-668. doi:<https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.12.032>.
- [78] M. Narumiya, N. Nakada, N. Yamashita, H. Tanaka, Phase distribution and removal of pharmaceuticals and personal care products during anaerobic sludge digestion, *J. Hazard. Mater.* 260 (2013) 305-312. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.05.032>.
- [79] B. Petrie, R. Barden, B. Kasprzyk-Hordern, A review on emerging contaminants in wastewaters and the environment: Current knowledge, understudied areas and recommendations for future monitoring, *Water Res.* 72 (2015) 3-27. doi:<https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.08.053>.
- [80] M. Bartrons, J. Peñuelas, Pharmaceuticals and Personal-Care Products in Plants, *Trends Plant Sci.* 22 (2017) 194-203. doi:[10.1016/j.tplants.2016.12.010](https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.12.010).
- [81] X. Wu, L.K. Dodgen, J.L. Conkle, J. Gan, Plant uptake of pharmaceutical and personal care products from recycled water and biosolids: A review, *Sci. Total Environ.* 536 (2015) 655-666. doi:[10.1016/j.scitotenv.2015.07.129](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.07.129).
- [82] R.M. Briones, A.K. Sarmah, Detailed sorption characteristics of the anti-diabetic drug metformin and its transformation product guanylurea in agricultural soils, *Sci. Total Environ.* 630 (2018) 1258-1268. doi:<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.02.306>.
- [83] I. Navarro, A. de la Torre, P. Sanz, C. Fernández, G. Carbonell, M. de los Á. Martínez, Environmental risk assessment of perfluoroalkyl substances and halogenated flame retardants released from biosolids-amended soils, *Chemosphere.* 210 (2018) 147-155. doi:<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.07.007>.
- [84] V.L.R. Pullagurala, S. Rawat, I.O. Adisa, J.A. Hernandez-Viezcas, J.R. Peralta-Videa, J.L. Gardea-Torresdey, Plant uptake and translocation of contaminants of emerging concern in soil, *Sci. Total Environ.* 636 (2018) 1585-1596. doi:<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.375>.
- [85] D. Calderón-Preciado, V. Matamoros, R. Savé, P. Muñoz, C. Biel, J.M. Bayona, Uptake of microcontaminants by crops irrigated with reclaimed water and groundwater under real field greenhouse conditions, *Environ. Sci. Pollut. Res.* 20 (2013) 3629-3638. doi:[10.1007/s11356-013-1509-0](https://doi.org/10.1007/s11356-013-1509-0).
- [86] U. Sellström, C.A. De Wit, N. Lundgren, M. Tysklind, Effect of sewage-sludge application on concentrations of higher-brominated diphenyl ethers in soils and earthworms, *Environ. Sci. Technol.* 39 (2005) 9064-9070. doi:[10.1021/es051190m](https://doi.org/10.1021/es051190m).
- [87] P.A. Rivier, I. Havranek, C. Coutris, H.R. Norli, E.J. Joner, Transfer of organic pollutants from sewage sludge to earthworms and barley under field conditions, *Chemosphere.* 222 (2019) 954-960. doi:[10.1016/j.chemosphere.2019.02.010](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.02.010).
- [88] M. Mkhinini, I. Boughattas, N. Bousserhine, M. Banni, Biochemical and transcriptomic

response of earthworms *Eisenia andrei* exposed to soils irrigated with treated wastewater, *Environ. Sci. Pollut. Res.* 26 (2019) 2851-2863. doi:10.1007/s11356-018-3794-0.

- [89] I. Navarro, A. de la Torre, P. Sanz, J. Pro, G. Carbonell, M. de los Á. Martínez, Bioaccumulation of emerging organic compounds (perfluoroalkyl substances and halogenated flame retardants) by earthworm in biosolid amended soils, *Environ. Res.* 149 (2016) 32-39. doi:10.1016/j.envres.2016.05.004.
- [90] D.W.S. Wong, Structure and action mechanism of ligninolytic enzymes, *Appl. Biochem. Biotechnol.* 157 (2009) 174-209. doi:10.1007/s12010-008-8279-z.
- [91] J.F. Osmá, J.L. Toca-Herrera, S. Rodríguez-Couto, Cost analysis in laccase production, *J. Environ. Manage.* 92 (2011) 2907-2912. doi:10.1016/j.jenvman.2011.06.052.
- [92] D. Brady, J. Jordaan, Advances in enzyme immobilisation, *Biotechnol. Lett.* 31 (2009) 1639-1650. doi:10.1007/s10529-009-0076-4.
- [93] E. Valero, M.-I. González-Sánchez, M.-T. Pérez-Prior, Removal of Organic Pollutants from Industrial Wastewater by Treatment with Oxidoreductase Enzymes, dans: E. Jiménez, B. Cabañas, G. Lefebvre (Éd.), *Environ. Energy Clim. Chang. I Environ. Chem. Pollut. Wastes*, Springer International Publishing, Cham, 2015: p. 317-339. doi:10.1007/698_2014_266.
- [94] I.E. Touahar, L. Haroune, S. Ba, J.P. Bellenger, H. Cabana, Characterization of combined cross-linked enzyme aggregates from laccase, versatile peroxidase and glucose oxidase, and their utilization for the elimination of pharmaceuticals, *Sci. Total Environ.* 481 (2014) 90-99. doi:10.1016/j.scitotenv.2014.01.132.
- [95] S. Ba, L. Haroune, C. Cruz-morató, C. Jacquet, I.E. Touahar, J. Bellenger, C.Y. Legault, J.P. Jones, H. Cabana, Synthesis and characterization of combined cross-linked laccase and tyrosinase aggregates transforming acetaminophen as a model phenolic compound in wastewaters, *Sci. Total Environ.* 487 (2014) 748-755. doi:10.1016/j.scitotenv.2013.10.004.
- [96] S. Yang, F.I. Hai, L.D. Nghiem, W.E. Price, F. Roddick, M.T. Moreira, S.F. Magram, Understanding the factors controlling the removal of trace organic contaminants by white-rot fungi and their lignin modifying enzymes: A critical review, *Bioresour. Technol.* 141 (2013) 97-108. doi:10.1016/j.biortech.2013.01.173.
- [97] M. Asgher, H.N. Bhatti, M. Ashraf, R.L. Legge, Recent developments in biodegradation of industrial pollutants by white rot fungi and their enzyme system, *Biodegradation.* 19 (2008) 771. doi:10.1007/s10532-008-9185-3.
- [98] E. Marco-Urrea, M. Pérez-Trujillo, T. Vicent, G. Caminal, Ability of white-rot fungi to remove selected pharmaceuticals and identification of degradation products of ibuprofen by *Trametes versicolor*, *Chemosphere.* 74 (2009) 765-772. doi:10.1016/j.chemosphere.2008.10.040.

- [99] L. Haroune, S. Saibi, J.P. Bellenger, H. Cabana, Evaluation of the efficiency of *Trametes hirsuta* for the removal of multiple pharmaceutical compounds under low concentrations relevant to the environment, *Bioresour. Technol.* 171 (2014) 199-202. doi:10.1016/j.biortech.2014.08.036.
- [100] H. Lee, Y. Jang, Y.S. Choi, M.J. Kim, J. Lee, H. Lee, J.H. Hong, Y.M. Lee, G.H. Kim, J.J. Kim, Biotechnological procedures to select white rot fungi for the degradation of PAHs, *J. Microbiol. Methods.* 97 (2014) 56-62. doi:10.1016/j.mimet.2013.12.007.
- [101] D. Schlosser, R. Grey, W. Fritsche, Patterns of ligninolytic enzymes in *Trametes versicolor*. Distribution of extra- and intracellular enzyme activities during cultivation on glucose, wheat straw and beech wood, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 47 (1997) 412-418. doi:10.1007/s002530050949.
- [102] T.K. Kirk, R.T. Lamar, J.A. Glaser, The Potential of White-Rot Fungi in Bioremediation, dans: *Biotechnol. Environ. Sci.*, 2007: p. 131-138. doi:10.1007/978-0-585-32386-2_15.
- [103] U. Hölker, M. Höfer, J. Lenz, Biotechnological advantages of laboratory-scale solid-state fermentation with fungi, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 64 (2004) 175-186. doi:10.1007/s00253-003-1504-3.
- [104] C.E. Rodríguez-Rodríguez, E. Marco-Urrea, G. Caminal, Degradation of naproxen and carbamazepine in spiked sludge by slurry and solid-phase *Trametes versicolor* systems, *Bioresour. Technol.* 101 (2010) 2259-2266. doi:10.1016/j.biortech.2009.11.089.
- [105] K.R. Weeks, C.J. Bruell, N.R. Mohanty, Use of Fenton's reagent for the degradation of TCE in aqueous systems and soil slurries, *Soil Sediment Contam.* 9 (2000) 331-345. doi:10.1080/10588330091134284.
- [106] E. Bérubé, The production of phenol oxidases by white-rot fungi in submerged liquid culture, 2002.
- [107] C.E. Rodríguez-Rodríguez, E. Barón, P. Gago-Ferrero, A. Jelić, M. Llorca, M. Farré, M.S. Díaz-Cruz, E. Eljarrat, M. Petrović, G. Caminal, D. Barceló, T. Vicent, Removal of pharmaceuticals, polybrominated flame retardants and UV-filters from sludge by the fungus *Trametes versicolor* in bioslurry reactor, *J. Hazard. Mater.* 233-234 (2012) 235-243. doi:10.1016/j.jhazmat.2012.07.024.
- [108] E. Marco-Urrea, M. Pérez-Trujillo, C. Cruz-Morató, G. Caminal, T. Vicent, White-rot fungus-mediated degradation of the analgesic ketoprofen and identification of intermediates by HPLC-DAD-MS and NMR, *Chemosphere.* 78 (2010) 474-481. doi:10.1016/j.chemosphere.2009.10.009.
- [109] C.E. Rodríguez-Rodríguez, A. Jelić, M. Llorca, M. Farré, G. Caminal, M. Petrović, D. Barceló, T. Vicent, Solid-phase treatment with the fungus *Trametes versicolor* substantially reduces pharmaceutical concentrations and toxicity from sewage sludge, *Bioresour. Technol.* 102 (2011) 5602-5608. doi:10.1016/j.biortech.2011.02.029.

- [110] A.I. Rodarte-Morales, G. Feijoo, M.T. Moreira, J.M. Lema, Biotransformation of three pharmaceutical active compounds by the fungus *Phanerochaete chrysosporium* in a fed batch stirred reactor under air and oxygen supply, *Biodegradation*. 23 (2012) 145-156. doi:10.1007/s10532-011-9494-9.
- [111] T. Chairin, T. Nitheranont, A. Watanabe, Y. Asada, C. Khanongnuch, S. Lumyong, Purification and characterization of the extracellular laccase produced by *Trametes polyzona* WR710-1 under solid-state fermentation, *J. Basic Microbiol.* 54 (2014) 35-43. doi:10.1002/jobm.201200456.
- [112] M. Łebkowska, M. Zaleska-Radziwiłł, Application of white-rot fungi for biodegradation of refractory organic compounds-a review, *Desalin. Water Treat.* 52 (2014) 3708-3713. doi:10.1080/19443994.2014.884666.
- [113] X. Fujian, C. Hongzhang, L. Zuohu, Solid-state production of lignin peroxidase (LiP) and manganese peroxidase (MnP) by *Phanerochaete chrysosporium* using steam-exploded straw as substrate, *Bioresour. Technol.* 80 (2001) 149-151. doi:10.1016/S0960-8524(01)00082-7.
- [114] V. Elisashvili, H. Parlar, E. Kachlishvili, D. Chichua, M. Bakradze, N. Kokhreidze, G. Kvesitadze, Ligninolytic activity of basidiomycetes grown under submerged and solid-state fermentation on plant raw material (sawdust of grapevine cuttings), *Adv. food Sci.* 23 (2001) 117-123.
- [115] E. Winqvist, U. Moilanen, A. Mettälä, M. Leisola, A. Hatakka, Production of lignin modifying enzymes on industrial waste material by solid-state cultivation of fungi, *Biochem. Eng. J.* 42 (2008) 128-132. doi:10.1016/J.BEJ.2008.06.006.
- [116] F. Gassara, Production économique d'enzymes ligninolytiques par fermentation à l'état solide des déchets agroindustriels et leurs applications, Université du Québec, Institut national de la recherche scientifique, 2012.
- [117] G. Kor-Bicakci, C. Eskicioglu, Recent developments on thermal municipal sludge pretreatment technologies for enhanced anaerobic digestion, *Renew. Sustain. Energy Rev.* 110 (2019) 423-443. doi:10.1016/j.rser.2019.05.002.
- [118] M.T. Nguyen, N.H. Mohd Yasin, T. Miyazaki, T. Maeda, Enhancement of sludge reduction and methane production by removing extracellular polymeric substances from waste activated sludge, *Chemosphere*. 117 (2014) 552-558. doi:10.1016/j.chemosphere.2014.08.055.
- [119] S. Pilli, P. Bhunia, S. Yan, R.J. LeBlanc, R.D. Tyagi, R.Y. Surampalli, Ultrasonic pretreatment of sludge: A review, *Ultrason. Sonochem.* 18 (2011) 1-18. doi:10.1016/j.ultsonch.2010.02.014.
- [120] M.P.J. Weemaes, W.H. Verstraete, Evaluation of current wet sludge disintegration techniques, *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 73 (1998) 83-92. doi:10.1002/(SICI)1097-4660(1998100)73:2<83::AID-JCTB932>3.0.CO;2-2.

- [121] E. Neyens, J. Baeyens, R. Dewil, B. De heyder, Advanced sludge treatment affects extracellular polymeric substances to improve activated sludge dewatering, *J. Hazard. Mater.* 106 (2004) 83-92. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2003.11.014>.
- [122] C. Bougrier, H. Carrère, J.P. Delgenès, Solubilisation of waste-activated sludge by ultrasonic treatment, *Chem. Eng. J.* 106 (2005) 163-169. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cej.2004.11.013>.
- [123] Q. Zhang, J. Hu, D.J. Lee, Y. Chang, Y.J. Lee, Sludge treatment: Current research trends, *Bioresour. Technol.* 243 (2017) 1159-1172. doi:10.1016/j.biortech.2017.07.070.
- [124] A.C. Avella, P. Chappe, P. Guinot-Thomas, P. De Donato, T. Gorner, Fungal treatment for wastewater settleability, *Environ. Eng. Sci.* 31 (2014) 18-23. doi:10.1089/ees.2013.0118.
- [125] J.P. Canler, J.M. Perret, La réduction de boues par voie biologique par le procédé MycET, (2013) 51. http://www.fndae.fr/documentation/numero_39.html.
- [126] M. Barjenbruch, O. Kopplow, Enzymatic, mechanical and thermal pre-treatment of surplus sludge, *Adv. Environ. Res.* 7 (2003) 715-720. doi:10.1016/S1093-0191(02)00032-1.
- [127] B. Frölund, T. Griebe, P.H. Nielsen, Enzymatic activity in the activated-sludge floc matrix, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 43 (1995) 755-761. doi:10.1007/BF00164784.
- [128] B. Albero, C. Sánchez-Brunete, A.I. García-Valcárcel, R.A. Pérez, J.L. Tadeo, Ultrasound-assisted extraction of emerging contaminants from environmental samples, *TrAC - Trends Anal. Chem.* 71 (2015) 110-118. doi:10.1016/j.trac.2015.03.015.
- [129] D.P. Mohapatra, M. Cledón, S.K. Brar, R.Y. Surampalli, Application of Wastewater and Biosolids in Soil: Occurrence and Fate of Emerging Contaminants, *Water. Air. Soil Pollut.* 227 (2016). doi:10.1007/s11270-016-2768-4.
- [130] N. Dorival-García, C. Labajo-Recio, A. Zafra-Gómez, B. Juárez-Jiménez, J.L. Vilchez, Improved sample treatment for the determination of 17 strong sorbed quinolone antibiotics from compost by ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry, *Talanta*. 138 (2015) 247-257. doi:10.1016/j.talanta.2015.03.011.
- [131] F. Gosetti, E. Mazzucco, D. Zampieri, M.C. Gennaro, Signal suppression/enhancement in high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry, *J. Chromatogr. A*. 1217 (2010) 3929-3937. doi:10.1016/j.chroma.2009.11.060.
- [132] M. Padrón, C. Afonso-Olivares, Z. Sosa-Ferrera, J. Santana-Rodríguez, Microextraction Techniques Coupled to Liquid Chromatography with Mass Spectrometry for the Determination of Organic Micropollutants in Environmental Water Sample, *Molecules*. 19 (2014) 10320-10349. doi:10.3390/molecules190710320.
- [133] C. Ribeiro, A.R. Ribeiro, A.S. Maia, V.M.F. Goncalves, M.E. Tiritan, New Trends in

Sample Preparation Techniques for Environmental Analysis, *Crit. Rev. Anal. Chem.* 44 (2014) 142-185. doi:10.1080/10408347.2013.833850.

- [134] K.M. Dimpe, P.N. Nomngongo, Current sample preparation methodologies for analysis of emerging pollutants in different environmental matrices, *TrAC - Trends Anal. Chem.* 82 (2016) 199-207. doi:10.1016/j.trac.2016.05.023.
- [135] E. Szymańska, J. Gerretzen, J. Engel, B. Geurts, L. Blanchet, L.M.C. Buydens, Chemometrics and qualitative analysis have a vibrant relationship, *TrAC Trends Anal. Chem.* 69 (2015) 34-51. doi:10.1016/J.TRAC.2015.02.015.
- [136] L.C. Nunes, E.R. Pereira-Filho, M.B.B. Guerra, F.J. Krug, A chemometric approach exploring Derringer's desirability function for the simultaneous determination of Cd, Cr, Ni and Pb in micronutrient fertilizers by laser-induced breakdown spectroscopy, *Spectrochim. Acta Part B At. Spectrosc.* 154 (2019) 25-32. doi:https://doi.org/10.1016/j.sab.2019.01.005.
- [137] J.L. Soliman, N.S.A. Lopez, J.B.M. M. Biona, Assessing sustainability of long-term energy supply using desirability functions, *Energy Procedia.* 158 (2019) 3723-3728. doi:https://doi.org/10.1016/j.egypro.2019.01.885.
- [138] C. Maheswara Rao, P. Srinivasa Reddy, D. Suresh, R. Jagadeesh Kumar, Optimization of Turning Process Parameters Using PSI-Based Desirability-Grey Analysis BT - Recent Advances in Material Sciences, dans: S. Pujari, S. Srikan, S. Subramonian (Éd.), Springer Singapore, Singapore, 2019: p. 231-246.
- [139] S.L.C. Ferreira, M.M. Silva Junior, C.S.A. Felix, D.L.F. da Silva, A.S. Santos, J.H. Santos Neto, C.T. de Souza, R.A. Cruz Junior, A.S. Souza, Multivariate optimization techniques in food analysis – A review, *Food Chem.* 273 (2019) 3-8. doi:https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.114.
- [140] L. Vera Candioti, M.M. De Zan, M.S. Cámara, H.C. Goicoechea, Experimental design and multiple response optimization. Using the desirability function in analytical methods development, *Talanta.* 124 (2014) 123-138. doi:10.1016/j.talanta.2014.01.034.
- [141] G. Derringer, R. Suich, Simultaneous optimization of several response variables, *J. Qual. Technol.* 12 (1980) 214-219.
- [142] ICH, Validation of a analytical Procedures : text and methodology Q2(R1), Guidance. 1994 (2005) 17.
- [143] P.J. Taylor, Matrix effects: The Achilles heel of quantitative high-performance liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry, *Clin. Biochem.* 38 (2005) 328-334. doi:10.1016/j.clinbiochem.2004.11.007.
- [144] A. Delle, Factors Affecting Sorption of Organic Compounds in Natural Sorbent Õ Water Systems and Sorption Coefficients for Selected Pollutants . A Review, 30 (2001).

- [145] M.V. Salvia, C. Cren-Olivé, E. Vulliet, Statistical evaluation of the influence of soil properties on recoveries and matrix effects during the analysis of pharmaceutical compounds and steroids by quick, easy, cheap, effective, rugged and safe extraction followed by liquid chromatography-tandem , *J. Chromatogr. A.* 1315 (2013) 53-60. doi:10.1016/j.chroma.2013.09.056.
- [146] X. Bai, A. Lutz, R. Carroll, K. Keteles, K. Dahlin, M. Murphy, D. Nguyen, Occurrence, distribution, and seasonality of emerging contaminants in urban watersheds, *Chemosphere.* 200 (2018) 133-142. doi:10.1016/j.chemosphere.2018.02.106.
- [147] M. Česen, D. Heath, M. Krivec, J. Košmrlj, T. Kosjek, E. Heath, Seasonal and spatial variations in the occurrence, mass loadings and removal of compounds of emerging concern in the Slovene aqueous environment and environmental risk assessment, *Environ. Pollut.* 242 (2018) 143-154. doi:10.1016/j.envpol.2018.06.052.
- [148] R.S. Dhodapkar, K.N. Gandhi, Pharmaceuticals and personal care products in aquatic environment: chemicals of emerging concern?, dans: *Pharm. Pers. Care Prod. Waste Manag. Treat. Technol.*, Butterworth-Heinemann, 2019: p. 63-85. doi:10.1016/b978-0-12-816189-0.00003-2.
- [149] M.D. Hernando, M. Mezcua, A.R. Fernández-Alba, D. Barceló, Environmental risk assessment of pharmaceutical residues in wastewater effluents, surface waters and sediments, *Talanta.* 69 (2006) 334-342. doi:10.1016/j.talanta.2005.09.037.
- [150] O. Golovko, V. Kumar, G. Fedorova, T. Randak, R. Grabic, Seasonal changes in antibiotics, antidepressants/psychiatric drugs, antihistamines and lipid regulators in a wastewater treatment plant, *Chemosphere.* 111 (2014) 418-426. doi:10.1016/j.chemosphere.2014.03.132.
- [151] R.L. Kiesling, S.M. Elliott, L.E. Kammel, S.J. Choy, S.L. Hummel, Predicting the occurrence of chemicals of emerging concern in surface water and sediment across the U.S. portion of the Great Lakes Basin, *Sci. Total Environ.* 651 (2019) 838-850. doi:10.1016/j.scitotenv.2018.09.201.
- [152] M. Kuzmanović, J.C. López-Doval, N. De Castro-Català, H. Guasch, M. Petrović, I. Muñoz, A. Ginebreda, D. Barceló, Ecotoxicological risk assessment of chemical pollution in four Iberian river basins and its relationship with the aquatic macroinvertebrate community status, *Sci. Total Environ.* 540 (2016) 324-333. doi:10.1016/j.scitotenv.2015.06.112.
- [153] M. Biel-Maeso, C. Corada-Fernández, P.A. Lara-Martín, Monitoring the occurrence of pharmaceuticals in soils irrigated with reclaimed wastewater, *Environ. Pollut.* 235 (2018) 312-321. doi:10.1016/j.envpol.2017.12.085.
- [154] K.O. K'oreje, F.J. Kandie, L. Vergeynst, M.A. Abira, H. Van Langenhove, M. Okoth, K. Demeestere, Occurrence, fate and removal of pharmaceuticals, personal care products and pesticides in wastewater stabilization ponds and receiving rivers in the Nzoia Basin, Kenya, *Sci. Total Environ.* 637-638 (2018) 336-348.

doi:10.1016/j.scitotenv.2018.04.331.

- [155] N. Mills, P. Pearce, J. Farrow, R.B. Thorpe, N.F. Kirkby, Environmental & economic life cycle assessment of current & future sewage sludge to energy technologies, *Waste Manag.* 34 (2014) 185-195. doi:10.1016/j.wasman.2013.08.024.
- [156] J.A. Mir-Tutusaus, R. Baccar, G. Caminal, M. Sarra, Can white-rot fungi be a real wastewater treatment alternative for organic micropollutants removal? A review, *Water Res.* 138 (2018) 137-151. doi:10.1016/j.watres.2018.02.056.
- [157] G.P. Black, T. Anumol, T.M. Young, Analyzing a broader spectrum of endocrine active organic contaminants in sewage sludge with high resolution LC-QTOF-MS suspect screening and QSAR toxicity prediction, *Environ. Sci. Process. Impacts.* 21 (2019) 1099-1114. doi:10.1039/c9em00144a.
- [158] ECB, Technical Guidance Document on Risk Assessment in Support of Commission Directive 93/67/EEC on Risk Assessment for New Notified Substances, 2003.
- [159] J. Martín, M.D. Camacho-Muñoz, J.L. Santos, I. Aparicio, E. Alonso, Distribution and temporal evolution of pharmaceutically active compounds alongside sewage sludge treatment. Risk assessment of sludge application onto soils, *J. Environ. Manage.* 102 (2012) 18-25. doi:10.1016/j.jenvman.2012.02.020.
- [160] M. Ashfaq, Y. Li, M.S.U. Rehman, M. Zubair, G. Mustafa, M.F. Nazar, C.P. Yu, Q. Sun, Occurrence, spatial variation and risk assessment of pharmaceuticals and personal care products in urban wastewater, canal surface water, and their sediments: A case study of Lahore, Pakistan, *Sci. Total Environ.* 688 (2019) 653-663. doi:10.1016/j.scitotenv.2019.06.285.
- [161] B. Subedi, K. Kannan, Occurrence and fate of select psychoactive pharmaceuticals and antihypertensives in two wastewater treatment plants in New York State, USA, *Sci. Total Environ.* 514 (2015) 273-280. doi:10.1016/j.scitotenv.2015.01.098.
- [162] J. Heidler, R.U. Halden, Meta-analysis of mass balances examining chemical fate during wastewater treatment, *Environ. Sci. Technol.* 42 (2008) 6324-6332. doi:10.1021/es703008y.
- [163] J. Radjenović, M. Petrović, D. Barceló, Fate and distribution of pharmaceuticals in wastewater and sewage sludge of the conventional activated sludge (CAS) and advanced membrane bioreactor (MBR) treatment, *Water Res.* 43 (2009) 831-841. doi:10.1016/j.watres.2008.11.043.
- [164] H. Wang, S.L. Brown, G.N. Magesan, A.H. Slade, M. Quintern, P.W. Clinton, T.W. Payn, Technological options for the management of biosolids, *Environ. Sci. Pollut. Res.* 15 (2008) 308-317. doi:10.1007/s11356-008-0012-5.
- [165] N.A. Cano Londoño, D.G. Suárez, H.I. Velásquez, G.J. Ruiz-Mercado, Emergy analysis for the sustainable utilization of biosolids generated in a municipal wastewater treatment

- plant, *J. Clean. Prod.* 141 (2017) 182-193. doi:10.1016/j.jclepro.2016.09.033.
- [166] S. Torri, R. Lavado, Plant absorption of trace elements in sludge amended soils and correlation with soil chemical speciation, *J. Hazard. Mater.* 166 (2009) 1459-1465. doi:10.1016/j.jhazmat.2008.12.075.
- [167] D. Barcelo, M. Gros, F. Ventura, A. Jelic, M. Petrovic, R. Cespedes-Sánchez, A. Ginebreda, Occurrence, partition and removal of pharmaceuticals in sewage water and sludge during wastewater treatment, *Water Res.* 45 (2010) 1165-1176. doi:10.1016/j.watres.2010.11.010.
- [168] M. Bartrons, J. Peñuelas, Pharmaceuticals and Personal-Care Products in Plants, *Trends Plant Sci.* 22 (2017) 194-203. doi:10.1016/j.tplants.2016.12.010.
- [169] Y. Luo, W. Guo, H.H. Ngo, L.D. Nghiem, F.I. Hai, J. Zhang, S. Liang, X.C. Wang, A review on the occurrence of micropollutants in the aquatic environment and their fate and removal during wastewater treatment, *Sci. Total Environ.* 473-474 (2014) 619-641. doi:10.1016/j.scitotenv.2013.12.065.
- [170] P. Durairaj, J.S. Hur, H. Yun, Versatile biocatalysis of fungal cytochrome P450 monooxygenases, *Microb. Cell Fact.* 15 (2016) 1-16. doi:10.1186/s12934-016-0523-6.
- [171] E.. Rice, R.. Baird, A.D. Eaton, *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 23rd Edition, 23^e éd., American Public Health Association, 2017.
- [172] HACH, Chemical oxygen demand, dichromate method, Hach. DOC316.53. (2014) 10. doi:10.1002/9780470114735.hawley03365.
- [173] OECD, OECD guideline for the testing of chemicals proposal for updating guideline 208 Terrestrial Plant Test : 208 : Seedling emergence and seedling Growth Test, 227 (2003) 1-19.
- [174] W. Qiao, Z. Yin, W. Wang, J. Wang, Z. Zhang, Pilot-scale experiment on thermally hydrolyzed sludge liquor anaerobic digestion using a mesophilic expanded granular sludge bed reactor, *Water Sci. Technol.* 68 (2013) 948-955. doi:10.2166/wst.2013.333.
- [175] M.Z. Alam, A. Fakhru'l-Razi, Enhanced settleability and dewaterability of fungal treated domestic wastewater sludge by liquid state bioconversion process, *Water Res.* 37 (2003) 1118-1124. doi:10.1016/S0043-1354(02)00452-9.
- [176] S. Voběrková, M.D. Vavěrková, A. Burešová, D. Adamcová, M. Vršanská, J. Kynický, M. Brtnický, V. Adam, Effect of inoculation with white-rot fungi and fungal consortium on the composting efficiency of municipal solid waste, *Waste Manag.* 61 (2017) 157-164. doi:10.1016/j.wasman.2016.12.039.
- [177] M.B.R. Cerqueira, K.L. Soares, S.S. Caldas, E.G. Primel, Sample as solid support in MSPD: A new possibility for determination of pharmaceuticals, personal care and degradation products in sewage sludge, *Chemosphere.* 211 (2018) 875-883.

doi:<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.07.165>.

- [178] EPA Victoria, Sampling and analysis of waters, wastewaters, soils and wastes, Ind. waste Resour. Guidel. (2009).
- [179] M. Kuzmanovic, Z. Banjac, A. Ginebreda, M. Petrovic, D. Barcelo, Chapter 3 - Prioritization: Selection of Environmentally Occurring Pharmaceuticals to Be Monitored, dans: M. Petrovic, D. Barcelo, S. Pérez (Éd.), Anal. Removal, Eff. Risk Pharm. Water Cycle, Elsevier, 2013: p. 71-90. doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-444-62657-8.00003-3>.
- [180] H. Yamamoto, A. Hayashi, Y. Nakamura, J. Sekizawa, Fate and partitioning of selected pharmaceuticals in aquatic environment., Environ. Sci. 12 (2005) 347-358.
- [181] University of Hertfordshire, Pesticide properties DataBase, (s. d.). <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/index.htm>.
- [182] M. Kuzmanović, A. Ginebreda, M. Petrović, D. Barceló, Risk assessment based prioritization of 200 organic micropollutants in 4 Iberian rivers, Sci. Total Environ. 503-504 (2015) 289-299. doi:10.1016/j.scitotenv.2014.06.056.
- [183] T. Okuda, N. Yamashita, H. Tanaka, H. Matsukawa, K. Tanabe, Development of extraction method of pharmaceuticals and their occurrences found in Japanese wastewater treatment plants, Environ. Int. 35 (2009) 815-820. doi:10.1016/j.envint.2009.01.006.
- [184] L. Barron, J. Tobin, B. Paull, Multi-residue determination of pharmaceuticals in sludge and sludge enriched soils using pressurized liquid extraction{,} solid phase extraction and liquid chromatography with tandem mass spectrometry, J. Environ. Monit. 10 (2008) 353-361. doi:10.1039/B717453E.
- [185] Y. Kim, K. Choi, J. Jung, S. Park, P.G. Kim, J. Park, Aquatic toxicity of acetaminophen, carbamazepine, cimetidine, diltiazem and six major sulfonamides, and their potential ecological risks in Korea, Environ. Int. 33 (2007) 370-375. doi:10.1016/j.envint.2006.11.017.